

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL KULIT APEL MANALAGI (*Malus sylvestris Mill*) DALAM MENCEGAH PENINGKATAN JUMLAH LEUKOSIT TIKUS (*Rattus norvegicus*) BUNTING YANG DIPAPAR ASAP ROKOK

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan



Oleh:

Meiritsya Abir Putri Kharima

NIM 155070601111040

PROGRAM STUDI S1 KEBIDANAN

JURUSAN KEBIDANAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2019

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL KULIT APEL MANALAGI (*Malus sylvestris* Mill) DALAM MENCEGAH PENINGKATAN JUMLAH LEUKOSIT TIKUS (*Rattus norvegicus*) BUNTING YANG DIPAPAR ASAP ROKOK

Oleh:

Meiritsya Abir Putri Kharima

NIM 155070601111040

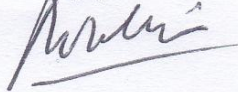
Telah diuji pada

Hari : Senin

Tanggal : 22 April 2019

dan dinyatakan lulus oleh:

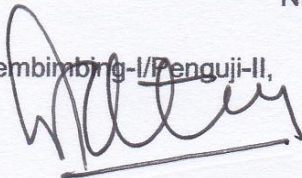
Penguji-I



Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardiono, DTM&H, M.Sc, Sp.Par.K.

NIP.195204101980021001

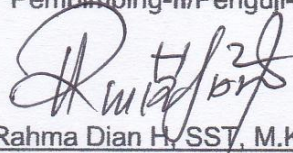
Pembimbing-I/Penguji-II,



Dr. dr. Setyawati Soeharto, M.Kes

NIK. 171152693

Pembimbing-II/Penguji-III,



Rahma Dian H. SST, M.Keb

NIK. 2018028709212001

Mengetahui,

Ketua Program Studi S1 Kebidanan





Tugas Akhir ini kupersembahkan
untuk ayahanda, ibunda
serta adik tercinta
yang senantiasa melimpahkan cinta dan
kasih sayangnya untukku

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Meiritsya Abir Putri Kharima

NIM : 155070601111040

Program Studi : S1 Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya. Apabila dikemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 15 April 2019

(Meiritsya Abir Putri Kharima)

NIM. 155070601111040

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah memberi petunjuk dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Apel Manalagi (*Malus Sylvestris Mill*) Dalam Mencegah Peningkatan Jumlah Leukosit Tikus (*Rattus Norvegicus*) Bunting Yang Dipapar Asap Rokok”.

Ketertarikan penulis akan topik ini didasari oleh fakta bahwa kulit apel yang kaya akan nutrisi. Selain itu pada bagian kulit apel terdapat kandungan antioksidan paling tinggi dibandingkan pada bagian buah apel lainnya, sehingga sangat bermanfaat untuk ibu hamil sebagai penghambat peningkatan jumlah leukosit yang disebabkan oleh paparan asap rokok. Penelitian ini bertujuan membuktikan bahwa kulit apel dapat mencegah peningkatan jumlah leukosit yang dipapar asap rokok.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Nuhfil Hanani AR., MS. Sebagai Rektor Universitas Brawijaya yang telah memberikan penulis kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Dr.dr. Wisnu Barlianto, MSiMed, SpA(K) dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan penulis kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTM&H, M.Sc, Sp.Par.K sebagai dosen penguji yang telah sabar membimbing untuk bisa menulis dengan baik, dan

senantiasa memberi semangat, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.

4. Dr. dr. Setyawati Soeharto, M.Kes. sebagai pembimbing pertama yang telah memberikan bantuan reagens, yang dengan sabar membimbing untuk bisa menulis dengan baik, dan senantiasa memberi semangat, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
5. Rahma Dian H, SST, M.Keb. sebagai pembimbing kedua yang dengan sabar telah membimbing penulisan dan analisis data, dan senantiasa memberi semangat, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
6. Linda Ratna W, SST, M. Kes, sebagai Ketua Program Studi S1 Kebidanan yang telah membimbing penulis menuntut ilmu di PS S1 Kebidanan di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
7. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB, yang telah membantu melancarkan urusan administrasi, sehingga penulis dapat melaksanakan Tugas Akhir dengan lancar.
8. Yang Tercinta ibunda Tutik Eko Budiarti dan ayahanda suwarno serta adik Attyya Putri Azzizzah atas segala pengertian, dan kasih sayangnya.
9. Teman-teman sepenelitian yaitu Ziana Zain N, Khalisa Erwanto, Retno Rahma Dila, Nadya Mufty R, Fathan Hayati, dan Nova Dewi K, atas konsultasi, saran, dan masukannya.
10. Anwar Tri Widodo yang telah memberikan saya semangat, dukungan, saran dan masukannya untuk segera menyelesaikan tugas akhir.

11. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa karya ilmiah ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun.

Akhirnya, semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 15 April 2019

Penulis

ABSTRAK

Kharima, Meiritsya Abir P. 2019. **Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Apel Manalagi (*Malus Sylvestris* Mill) dalam Mencegah Peningkatan Jumlah Leukosit Tikus (*Ratus Norvegicus*) Bunting yang Dipapar Asap Rokok**. Tugas Akhir, Program Studi Sarjana Kebidanan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) Dr.dr. Setyawati Soeharto M.Kes (2) Rahma Dian H., SST., M.Keb

Latar Belakang: Paparan asap rokok mengandung radikal bebas sehingga dapat meningkatkan ROS (*Reactive Oxygen Species*). Peningkatan ROS yang tidak diimbangi dengan antioksidan dari dalam tubuh dapat menyebabkan terjadinya stress oksidatif. Stress oksidatif ditandai dengan meningkatnya radikal oksigen dan reaksi inflamasi berupa peningkatan jumlah leukosit. Pada wanita hamil, jumlah leukosit lebih dari $12.000/mm^3$ merupakan indikasi adanya leukositosis. Tingginya jumlah leukosit berakibat pada kehamilan dan janin, seperti prematur maupun Infeksi Neonatal Awitan Dini (INAD). Untuk dapat menetralsir radikal bebas dapat menggunakan antioksidan dari luar ataupun dari dalam tubuh. **Tujuan:** membuktikan pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit apel dalam mencegah peningkatan jumlah leukosit tikus bunting yang dipapar asap rokok. **Metode:** Penelitian ini menggunakan *desain* true experimental dengan rancangan penelitian *Randomized Post Test Only Control Group Design*. Sampel dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol (-) adalah kelompok tanpa dipapar asap rokok dan tanpa pemberian ekstrak etanol kulit apel. Kelompok kontrol (+) adalah kelompok pemaparan asap rokok tanpa pemberian ekstrak etanol kulit apel serta 3 kelompok perlakuan yang mana diberikan pemaparan asap rokok dan diberi ekstrak etanol kulit apel dengan dosis (P1 = 7; P2 = 14; P3 = 28 mg/KgBB/hari). **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan bahwa P2 dan P3 memiliki perbedaan yang signifikan terhadap K+. **Kesimpulan:** ekstrak kulit apel terbukti dapat mencegah peningkatan jumlah leukosit dan dosis efektif yaitu 14 mg/KgBB/hari.

Kata kunci: asap rokok, ekstrak etanol kulitapel, kehamilan, leukosit.

ABSTACK

Kharima, Meiritsya Abir P. 2019. **Effect of Giving Ethanol Extract of Manalagi Apple Skin (*Malus sylvestris* Mill) in Preventing Increase in Leukosit in Pregnant Rat (*Rattus novergicus*) Exposed to Cigarette Smoke**. Final Project, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya. Advisor : (1) Dr.dr. SetyawatiSoehartoM.Kes (2) Rahma Dian H., SST., M.Keb

Background of Research : Exposure to cigarette smoke will produce free radicals so that it can increase ROS (Reactive Oxygen Species). This can cause oxidative stress. Oxidative stress is characterized by an increase in oxygen radicals and an inflammatory reaction in the form of an increase in the number of leukocytes. In pregnant women, a leukocyte count of more than $12,000 /mm^3$ is an indication of leukocytosis. The high number of leukocytes results in pregnancy and the fetus, such as premature and Early Onset Neonatal Infection (INAD). To be able to neutralize radicals, it can use antioxidants from outside or from inside the body.

The Objective of the research: This research is aiming to understand The Effect of the Extract of Apple Peel Etanol in order to restrain the over-increasing amount of Leukosit in Smokes exposures of Enceinte Mouse. **Method:** The Method of the research will apply Experimental True Design with Randomized Post Test Only Control Group Design. The sample will be divided to 5 group. Control Group (-) is the default group without exposure and Etanol Extract. Control Group (+) is group with Exposure and Etanol Extract adduction. And then the 3 Group remain will had the adduction of exposure effect and The Etanol Extract in the process as follow (P1=7; P2=14;P3=28 mg/KgBB/Day). **Result:** the output of the research shows that the amount of Leukosit in CG (+) is significantly Higher than CG (-), then the amount of Leukosit in P2 and P3 relatively lower than CG+ significantly, Yet its neither to the K-. **Conclusion:** Apple skin extract has been proven to prevent an increase in the number of leukocytes starting from P2.

Keyword: Extract Etanol in Apple peel, leukosit, Pregnancy, Smokes.

DAFTAR ISI

Judul.....	i
Halaman Pengesahan	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iv
Kata Pengantar.....	v
Abstrak	viii
Daftar Isi	x
Daftar Tabel.....	xiii
Daftar Gambar	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Asap Rokok	7
2.1.1 Pengertian asap rokok	7
2.1.2 Kandungan Asap Rokok	7
2.2 Leukosit	9
2.2.1 Pengertian Leukosit	9
2.2.2 Jenis Leukosit	10
2.2.3 Leukosit Pada Kehamilan	12
2.3 Radikal bebas	13
2.3.1 Pengertian Radikal Bebas	13
2.3.2 Stres Oksidatif	15
2.4 Antioksidan.....	16
2.4.1 Pengertian Antioksidan	16

	2.4.2 Klasifikasi Antioksidan	16
2.5	Apel	17
	2.5.1 Apel Manalagi	18
	2.5.2 Taksonomi.....	18
	2.5.3 Kandungan Apel.....	19
2.6	Tikus Putih (Rattus Norvegicus)	22
	2.6.1 Taksonomi.....	22
	2.6.2 Kebuntingan Tikus Putih	23
	2.6.3 Hematologi tikus	26
BAB 3	KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	28
3.1	Kerangka Konsep.....	28
3.2	Hipotesis Penelitian	30
BAB 4	METODE PENELITIAN.....	31
4.1	Rancangan Penelitian	31
4.2	Populasi dan Sampel Penelitian.....	31
	4.2.1 Kriteria Inklusi	32
	4.2.2 Kriteria Eksklusi	32
	4.2.3 Prosedur dan Teknik Pengambilan Sampel.....	33
4.3	Variabel Penelitian	33
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian	33
	4.4.1 Lokasi Penelitian	33
	4.4.2 Waktu Penelitian	33
4.5	Bahan dan Alat Penelitian	34
	4.5.1 Bahan untuk Pemeliharaan Hewan Coba	34
	4.5.2 Bahan untuk Perlakuan Hewan Coba.....	34
	4.5.3 Bahan Pembedahan Hewan Coba.....	34
	4.5.4 Bahan Pengukuran Jumlah Leukosit	34
	4.5.5 Alat Pemeliharaan Hewan Coba.....	34
	4.5.6 Alat Penimbangan Berat Badan Hewan Coba	34

4.5.7	Alat Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Apel	35
4.5.8	Alat Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Apel pada Hewan Coba	35
4.5.9	Alat Pemaparan Asap Rokok pada Hewan Coba	35
4.5.10	Alat Pembedahan dan Pengambilan Sampel Darah Hewan Coba	35
4.5.11	Alat Pengukur Jumlah Leukosit	36
4.6	Definisi Operasional.....	36
4.7	Prosedur Penelitian.....	37
4.7.1	Adaptasi Hewan Coba.....	37
4.7.2	Prosedur Pembuntingan Hewan Coba	37
4.7.3	Pembagian Kelompok Hewan Coba	38
4.7.4	Penentuan dosis Ekstrak Etanol kulit Apel Manalagi	38
4.7.5	Prosedur Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Apel	39
4.7.6	Prosedur Pemeliharaan Hewan Coba	40
4.7.7	Prosedur Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Apel Manalagi (Malus sylvestris Mill) pada Hewan Coba	40
4.7.8	Prosedur Pemaparan Asap Rokok pada Hewan Coba.....	40
4.7.9	Prosedur Pembedahan dan Pengambilan Sampel Darah Hewan Coba.....	41
4.7.10	Prosedur Pengukuran Jumlah Leukosit	42
BAB 5	HASIL PENELITIAN	46
5.1	Hasil Pengukuran.....	46
5.2	Analisa Data	47
BAB 6	PEMBAHASAN	51
BAB 7	PENUTUP.....	55
7.1	Kesimpulan.....	55
7.2	Saran.....	55
	DAFTAR PUSTAKA.....	56
	LAMPIRAN.....	62

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Kandungan gizi 100 gram apel.....	21
Tabel 2. 2 Kandungan fitokimia apel.....	21
Tabel 2. 1 data biologis tikus	24
Tabel 5.1 Hasil Pengukuran Rata-Rata Jumlah Leukosit Darah Tikus Setelah Dipapar Asap Rokok dan Diberikan Ekstrak Etanol Kulit Apel dengan Berbagai Dosis.....	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Apel Manalagi (<i>Malus syvestis</i> Mil).....	19
Gambar 2. 2 Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	22
Gambar 2. 3 Asupan Vagina Tikus Putih Betina Setelah Perkawinan	26

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Asap rokok dapat dijumpai dengan mudah, hampir setiap hari di lingkungan sekitar. Hal ini tidak lepas dari banyaknya jumlah perokok di dunia. Meskipun banyak orang telah mengetahui bagaimana dampak yang diakibatkan dari perilaku merokok akan tetapi pada kenyataannya jumlah perokok meningkat dari tahun ketahun (Sirih dkk.,2017). Jumlah perokok yang ada di Indonesia pada saat ini untuk laki-laki yaitu (65,9%) sedangkan perempuan hanya (4,2 %). Berdasarkan hasil Riskesdas tahun 2013 perokok di Provinsi Jawa Timur yang berumur lebih dari 10 tahun yaitu 23,9 % (Hanum,2016). Perempuan yang terpapar asap rokok di rumah sebesar 78,4%, di restoran sebesar 76,2%, di angkutan umum sebesar 62,4%, di kantor sebesar 55,4% dan pada fasilitas kesehatan sebesar 16,5%. Hal ini tidak menutup kemungkinan terdapat perempuan hamil. Perempuan hamil yang terpapar asap rokok menyalurkan zat-zat racun dari asap rokok kepada janin yang dikandungnya melalui peredaran darah (GATS, 2011).

Secara umum asap rokok dapat terbagi menjadi dua fase. Fase tar merupakan bahan yang terserap dari penyaringan asap rokok, memiliki kandungan sebesar $>10^{17}$ radikal bebas per hisapan sedangkan fase gas merupakan fase dengan berbagai macam gas yang berbahaya mengandung $>10^{15}$ radikal bebas per hisapan. Radikal bebas yang terdapat pada fase tar memiliki waktu paruh yang lebih lama dari pada fase gas yaitu sampai beberapa bulan, sedangkan fase gas hanya memiliki waktu paruh beberapa detik saja. Komponen-komponen yang terkandung

pada paparan asap rokok seperti: nikotin, karbonmonoksida, DDT (pestisida), arsenik, akrolein, benzopiren, hidroquinon, oksidan konsentrasi tinggi, radikal bebas dan lain-lain (Depkes, 2009). Radikal bebas yang terbentuk dari pembakaran rokok akan berikatan dengan oksigen reaktif yang menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Adanya peningkatan ROS (*Reactive Oxygen Species*) akibat paparan asap rokok diimbangi dengan sistem pertahanan antioksidan. Akan tetapi pada saat ROS meningkat melebihi sistem pertahanan antioksidan dalam tubuh terjadilah stress oksidatif (Komala, 2011)

Stress oksidatif juga berperan penting dalam patofisiologi berbagai penyakit. Stress oksidatif yang muncul akibat paparan asap rokok dihubungkan dengan peningkatan jumlah sitokin pro inflamasi dalam tubuh. sitokin pro inflamasi masing-masing menstimulasi sumsum tulang dan menjadi mediator terjadinya inflamasi sistemik (Chunningham, 2013). Inflamasi merupakan respon kompleks biologi dari jaringan pembuluh darah terhadap stimulasi berbahaya seperti pathogen ataupun sel-sel tubuh yang rusak (Rahmawati, 2014). Salah satu kandungan yang berbahaya dari asap rokok adalah nikotin. Nikotin pada asap rokok dapat memicu inflamasi karena mempunyai efek langsung pada neutrofil dan makrofag (Fitria, *et al.* 2013).

Pada kehamilan, terjadi perubahan anatomi, fisiologi dan biokimia sebagai bentuk adaptasi terhadap perubahan hormonal. Perubahan tersebut dimulai sejak awal kehamilan dan lanjut seiring bertambahnya usia kehamilan. Efek ini terjadi akibat toleransi ibu terhadap antigen jaringan asing dari janin yang bersifat semialogenik (50% genetik dari paternal dan 50% dari maternal sehingga janin akan mempresentasikan antigen yang terdapat pada paternal dan maternal). Namun, jika

jumlah sel darah putih telah mencapai 12.000 sel/mm^3 merupakan indikasi adanya leukositosis pada wanita hamil. Tingginya jumlah leukosit pada ibu hamil berakibat buruk pada kehamilan dan janin, seperti persalinan prematur, Infeksi Neonatal Awitan Dini (INAD), dan lain-lain (Ross,2011).

Pada ibu hamil yang terpapar asap rokok, dapat menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah leukosit. Untuk dapat menurunkan jumlah leukosit dapat dipengaruhi oleh faktor asupan terutama yang mengandung antioksidan. Antioksidan adalah substansi yang dibutuhkan oleh tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang timbul akibat dari radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak, melindungi struktur sel, anti inflamasi, serta mencegah keropos tulang (Simanjuntak,2012). Sebenarnya begitu banyak buah ataupun bagian dari beberapa tanaman yang belum begitu dimanfaatkan dengan baik, termasuk pengolahan kulit apel. Tanaman apel merupakan salah satu tanaman yang banyak dan mudah tumbuh di daerah tropis termasuk Indonesia dan di daerah Batu Malang. Terdapat banyak jenis apel yang dapat dimanfaatkan, sedangkan yang lainnya dapat digunakan sebagai bahan olahan seperti manisan apel, kripik apel dan sari buah apel. Namun buangan dari olahan yang berupa kulit apel ini, selama ini belum dapat dimanfaatkan dengan begitu baik, selama ini kulit apel digunakan sebagai pakan ternak dan pemupukan tanaman. Sebenarnya kulit apel juga dapat digunakan sebagai bahan antioksidan alami yang sangat dibutuhkan oleh tubuh untuk melawan berbagai radikal bebas dari luar. Kulit apel mengandung zat kuersetin yang dapat digunakan untuk meningkatkan kadar antioksidan yang dapat digunakan untuk mencegah berbagai macam penyakit. Menurut hasil penelitian sebelumnya apel

yang berukuran sedang mampu menyediakan antioksidan setara dengan vitamin C 1.500 mg. Kuersetin yang ada pada kulit apel memiliki fungsi sebagai antioksidan. Kuersetin sendiri adalah senyawa turunan dari flavonol yang paling banyak terdapat di alam dari pada jenis flavonoid yang lainnya (Lestario dan Andini,2016).

Apakah benar pemberian ekstrak etanol kulit apel dapat digunakan untuk mencegah peningkatan jumlah leukosit pada ibu hamil yang dipapar asap rokok? Sejauh ini belum ada penelitian tentang hal tersebut. Untuk itu akan diteliti mengenai pemberian ekstrak etanol kulit apel terhadap penurunan jumlah leukosit pada tikus putih yang dipapar asap rokok.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak etanol kulit apel (*Malus sylvestris*) dapat mencegah peningkatan jumlah leukosit pada tikus (*Rattus norvegicus*) bunting yang dipapar asap rokok?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan pengaruh pemberian ekstrak etanol kulitapel (*Malus sylvestris*) dalam mencegah peningkatan jumlah leukosit pada tikus (*Rattus norvegicus*) bunting yang dipapar asap rokok.

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1) Membuktikan pemberian ekstrak etanol kulit apel (*Malus sylvestris*) dalam mencegah peningkatan jumlah leukosit pada tikus (*Rattus norvegicus*) bunting setelah terpapar rokok.

- 2) Membuktikan dosis efektif pemberian ekstrak etanol kulit apel (*Malus sylvestris*) dalam mencegah peningkatan jumlah leukosit tikus (*Rattus norvegicus*) bunting yang dipapar asap rokok.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dan sebagai dasar pengembangan manfaat ekstrak etanol kulit apel dalam dunia kebidanan.

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dan wawasan masyarakat tentang pengaruh pemberian kulit apel sebagai antioksidan.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Asap Rokok

2.1.1 Pengertian asap rokok

Rokok adalah salah satu produk tembakau yang penggunaannya dengan cara dibakar dan dihisap asapnya dan/atau dihirup asapnya yang dihasilkan dari tanaman *nicotiana tabacum*, *nicotinia rustica*, dan spesies lainnya atau sintesisnya yang asapnya mengandung nikotin dan tar dengan atau tanpa bahan tambahan (PP RI No. 109, 2012).

Asap rokok memiliki 2 fase yaitu fase gas dan fase partikel (tar). Fase partikel (tar) diketahui dapat masuk ke alveolus (Valavanidis *et al.*, 2009). Fase gas terdiri dari karbon monoksida, asam hidrosianat, asetaldehid, akrolein, amonia, formaldehid, oksida dari nitrogen, nitrosiamin, hidrazin, dan vinil klorida. Sedangkan, partikel padat yang dihasilkan terdiri dari tar, hidrokarbon aromatik polinuklear, nikotin, fenol, kresol, logam, indol, karbazol, dan katekol (Syahdrajat, 2007).

2.1.2 Kandungan Asap Rokok

Berikut zat-zat yang terkandung dalam asap rokok antara lain:

1) Nikotin

Nikotin merupakan molekul aktif utama yang berasal dari daun *Nicotiana tabacom* yang ada dalam asap rokok. Dosis besar nikotin sangat beracun. Orang yang merokok beresiko mengalami penyakit kronis seperti emfisema, bronkitis, penyakit kardiovaskular, kanker, dan penyakit bronkopulmonalis

(Taghavi *et al.*, 2012). Hasil penelitian sebelumnya juga menyebutkan kandungan nikotin pada asap rokok dapat masuk ke aliran darah janin dengan melewati plasenta (Luck *et al.*, 1985; Clark and Irion, 1992).

Nikotin termasuk sebagai stimulan dan memegang peranan penting terkait ketergantungan terhadap rokok. Pada studi yang baru, merokok dapat meningkatkan pelepasan dopamin pada otak, terutama di jalur mesolimbik, memiliki jalan yang sama dengan heroin dan kokain. Pada dasarnya, nikotin memiliki pengaruh terhadap pembuluh darah arteri diseluruh tubuh. Nikotin merupakan stimulan yang dapat meningkatkan tekanan darah dan sebagai vasokonstriktor yang menjadikan jantung bekerja lebih berat memompa darah melalui pembuluh darah yang menyempit (Fauzi, 2010).

2) Tar

Tar merupakan suatu bahan kimia dari asap rokok yang berwarna coklat tua atau hitam yang merupakan salah satu bentuk substansi hidrokarbon. Tar merupakan komponen asap rokok yang memiliki sifat karsinogenik (Fowles dan Bates, 2000). Konsentrasi radikal bebas didalam tar sangat tinggi dan bertahan dalam waktu yang lama. Kadar tar dalam tembakau antara 0,5-35 mg/batang. Tar melapisi jaringan yang halus dari paru-paru sehingga lebih sedikit oksigen yang bisa menyebrang dari paru-paru ke dalam darah (Smith, 2006).

3) Karbonmonoksida

Karbonmonoksida merupakan gas yang tidak berbau, inhalasi gas ini menyebabkan kerusakan syaraf pusat dan asfiksia dengan cara meningkat

hemoglobin secara irreversible (Dorland, 2011). Karbomonoksida merendahkan kandungan oksigen di dalam darah dan meracuni jantung, sehingga terjadi kekurangan pasokan oksigen dan membuat kerja jantung kurang efisien (Smith, 2006).

2.2 Leukosit

2.2.1 Pengertian Leukosit

Leukosit berwarna bening (tidak berwarna), bentuknya lebih besar dari sel darah merah, tetapi jumlahnya lebih kecil (Pearce, 2008). Leukosit adalah sel darah yang mengandung inti, disebut juga sel darah putih. Di dalam darah manusia, normalnya didapati jumlah leukosit rata-rata $5.000-9.000 \text{ sel/mm}^3$, bila jumlahnya telah mencapai 12.000 sel/mm^3 , keadaan ini disebut leukositosis, bila kurang dari 5000 sel/mm^3 disebut leukopenia (Guyton, 2011).

Terdapat lima macam leukosit dengan bentuk dan fungsi berbeda, kelimaanya masuk dalam dua kategori utama bergantung pada gambaran nukleus dan ada tidaknya granula di sitoplasma. Neutrofil, basofil, dan eosinofil dikategorikan sebagai granulosit (sel yang memiliki granula) dan polimorfonukleus (bentuk inti beragam). Monosit dan limfosit dikategorikan sebagai agranulosit (Sel yang tidak memiliki granula) dan monokleus (inti tunggal). Leukosit merupakan sel dengan jumlah paling sedikit di dalam darah, karena diproduksi sedikit, dan tidak disimpan dalam darah (Sadikin, 2002).

2.2.2 Jenis Leukosit

2.2.2.1 Neutrofil

Neutrofil memiliki diameter sekitar 12-15 μm . Neutrofil memiliki inti sel lebih dari dua dan bentuk granulnya kecil dan halus. Neutrofil mewarnai dirinya dengan pewarna netral, atau campuran pewarna asam dan basa, dan tampak bewarna ungu (Pearce, 2008).

Jumlah neutrofil normal di dalam darah adalah 1260-7300/ mm^3 atau 36-73% dari total leukosit. Neutrofil adalah sel fagositik motil dari sistem imun bawaan yang berperan penting dalam proses inflamasi. Sel ini bersama dengan makrofag berperan untuk fagositosis bakteri, virus dan agen asing lain di dalam tubuh, baik di jaringan maupun di dalam darah. Fungsi fagositik neutrofil didukung oleh adanya lisosom serta kemampuan membentuk fagosom dari pseudopodia. Peptida dari bakteri yang difagosit, serta faktor kemotaksis sel imun disekitar infeksi, akan merangsang lebih banyak neutrofil. Neutrofil akan keluar dari kapiler dan berkumpul di sekitar infeksi membentuk jaringan granulasi (Kiswari, 2014).

2.2.2.2 Eosinofil

Eosinofil memiliki diameter sekitar 9 μm dan memiliki 2-4 lobus. Fungsi utama eosinofil adalah detoksifikasi baik terhadap protein asing yang masuk dalam tubuh melalui paru-paru ataupun saluran cerna maupun racun yang dihasilkan oleh bakteri dari parasit. Sel ini penting dalam respon terhadap penyakit parasitik dan alergi

(Hoffbrand, 2005). Eosinofil juga berperan dalam perbaikan jaringan, kekebalan bawaan, dapatan dan adaptif. Eosinofil banyak ditemukan di medula, pertemuan antara korteks dan medula dari timus dalam saluran cerna bagian bawah, ovarium, rahim, limpa dan kelenjar getah bening, tetapi tidak dalam paru-paru, kulit kerongkongan, atau beberapa organ internal lainnya dalam kondisi normal (Schalm, 2010).

2.2.2.3 Basofil

Basofil dan sel mast adalah sel yang berbeda, meski secara fungsi banyak memiliki kemiripan. Basofil dapat memfagosit sel yang telah ditandai, meski sifat fagositnya lebih rendah dibanding granulosit lainnya. Diameter basofil berkisar antara 14-18 μm , dengan granula sitoplasma yang tampak kasar. Basofil terdapat dalam jumlah kecil di dalam darah dan sering ditemukan pada jaringan yang inflamasi akibat reaksi hipersensitivitas, atau alergi (Nugraha, 2015).

2.2.2.4 Monosit

Monosit memiliki bentuk sferis dengan permukaan yang berkerut dan memiliki tonjolan saat dilihat dengan mikroskop. Memiliki nukleus tunggal dengan nukleus kecil, dan sitoplasma penuh dengan mitokondria, mikrotubul serta mikrofilamen. Setelah berpindah dan menetap di jaringan monosit akan berkembang dan matur menjadi makrofag. Makrofag akan menetap di jaringan, dan akan menjadi lini pertahanan pertama terhadap infeksi bakteri, dengan cara memfagosit bakteri yang menginvasi. Makrofag juga berperan penting dalam mediasi

proses peradangan dengan pelepasan sitokin pro inflamasi (Sadikin, 2002).

2.2.2.5 Limfosit

Limfosit adalah leukosit yang memperantarai proses imun adaptif. Banyak ditemukan di nodus limfe, dapat juga ditemukan pada organ limfoid khusus, seperti limpa, daerah submukosa saluran cerna, timus dan sumsum tulang. Jaringan limfoid tersebar pada daerah-daerah yang menguntungkan untuk mencegah penyebaran mikroorganisme dan toksin sebelum menyebar luas (Kiswari, 2014). Limfosit merupakan sekumpulan sel heterogen yang secara garis besar dibedakan menjadi tiga macam, yaitu sel T, sel B, dan sel *natural killer* (NK) dan ketiganya tidak memiliki perbedaan morfologi yang mencolok (Nugraha, 2015).

2.2.3 Leukosit Pada Kehamilan

Leukosit selama kehamilan mengalami perubahan, fungsi kemotaksis dan adhesi polimorfonuklear akan menurun saat awal trimester kedua dan akan berlanjut sepanjang kehamilan. Jumlah leukosit akan mengalami peningkatan akibat dari stress fisiologis yang diinduksi oleh kehamilan. Jumlah leukosit rata-rata sekitar $5000-1200/mm^3$. Pada wanita hamil tanpa komplikasi dapat mengalami peningkatan jumlah leukosit sekitar $900-2500/mm^3$ darah. Peningkatan leukosit didominasi oleh neutrofil, sementara limfosit akan mengalami penurunan pada trimester pertama dan kedua lalu meningkat pada trimester tiga. Selain itu, pada masa kehamilan akan terjadi peningkatan

decidual natural killer (dNK) pada desidua basalis. Sel dNK akan menjadi sel yang paling banyak ditemukan di desidua basalis selama kehamilan. Sel dNK tidak berperan dalam sitotoksik, dan fungsi sebenarnya asih belum dipahami(Sulin,2009).

Jumlah leukosit pada ibu hamil meningkat secara gradual, seiring dengan peningkatan usia kehamilan. Peningkatan jumlah leukosit sejak trimester pertama menjadi faktor resiko pada persalinan prematur, serta memiliki hubungan dengan kejadian bayi berat lahir rendah, hipertensi pada kehamilan dan kejadian lain (Sulin,2009).

Leukositosis biasa terjadi pada ibu hamil, hal ini disebabkan karena stress fisiologik dengan usia kehamilan. Neutrofil merupakan salah satu hitung jenis leukosit yang dominan mengalami peningkatan akibat kegagalan apoptosis neutrofilik selama kehamilan (Chandra *et al.*, 2012).

Hitungan jenis limfosit akan menurun selama trimester pertama dan kedua kemudian akan meningkat pada trimester ketiga kehamilan. Selama kehamilan monositosis absolute dapat terjadi, terutama pada trimester pertama, namun menurun seiring bertambahnya usia kehamilan (Chandra *et al.*, 2012).

2.3 Radikal bebas

2.3.1 Pengertian Radikal Bebas

Radikal bebas adalah molekul yang memiliki satu ataupun lebih elektron yang tidak berpasangan di orbit luar sehingga relatif tidak stabil, sehingga untuk mendapatkan kestabilannya, molekul yang mempunyai sifat

reaktif tersebut mencari pasangan elektronnya (Ardhie,2011). Caranya dengan menarik atau menyerang elektron senyawa lain. Hal ini mengakibatkan terbentuknya senyawa radikal baru (Winarsi, 2007).

Mekanisme reaksi radikal bebas dapat dibagi menjadi 3, yaitu:

1) Inisiasi

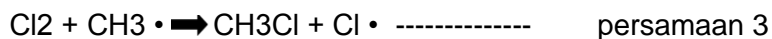
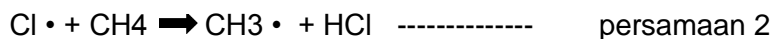
Tahap inisiasi adalah pembentukan awal dari radikal-radikal bebas (Fessenden, 1986).

Cahaya UV atau kalor



2) Propagasi

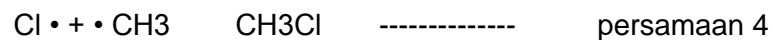
Pembentukan radikal bebas akan mengakibatkan terbentuknya radikal baru dengan suatu reaksi yang disebut reaksi rantai (Fessenden, 1986).



Secara teoritis, proses ini akan berlangsung terus menerus karena sebuah $\text{Cl} \cdot$ akan mengalami reaksi yang menyebabkan terbentuknya sebuah $\text{Cl} \cdot$ yang lain (Fessenden, 1986).

3) Terminasi

Reaksi rantai yang terjadi akan berhenti pada tahap terminasi yaitu ketika radikal bebas bergabung dengan radikal bebas yang lain sehingga tidak membentuk radikal bebas yang baru (Fessenden, 1986).



Sumber radikal bebas dapat dibagi menjadi 3, yaitu (Kumar, 2011):

- 1) Sumber internal: berasal dari reaksi enzimatik yang menghasilkan suatu radikal bebas seperti pada reaksi pernafasan, fagositosis, sintesis prostaglandin, serta dalam sistem sitokrom P450.
- 2) Sumber eksternal: asap rokok, polutan lingkungan, radiasi, sinar UV, ozon, obat-obatan, anestesi, pestisida, dan pelarut industri.
- 3) Faktor fisiologis: status mental seperti stres, emosi dan kondisi penyakit yang dapat memicu terbentuknya radikal bebas.

2.3.2 Stres Oksidatif

Stress oksidatif merupakan suatu keadaan yang berhubungan dengan peningkatan kecepatan kerusakan sel yang diakibatkan karena induksi oksigen serta turunannya (senyawa spesies oksigen reaktif/ROS). Kerusakan sel ini terjadi akibat terjadinya ketidakseimbangan antara pembentukan ROS dan aktivitas pertahanan enzim antioksidan. Ketidakseimbangan ini terjadi ketika pembentukan radikal bebas melebihi dari sistem pertahanan, sistem pertahanan tidak mampu mengeluarkan radikal bebas. Kondisi yang berhubungan dengan stress meliputi penyakit kronis, infeksi serta inflamasi yang dapat meningkatkan proses oksidasi dan menyebabkan kerusakan sel.

Situasi dimana terjadinya perubahan keseimbangan karena adanya kelebihan ROS atau berkurangan antioksidan yang mana dapat berfungsi sebagai penetralisir ROS (Astuti, 2008).

2.4 Antioksidan

2.4.1 Pengertian Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif/ spesies nitrogen reaktif (ROS/RNS) dan juga radikal bebas, sehingga antioksidan dapat mencegah penyakit-penyakit yang dihubungkan dengan radikal bebas seperti karsinogenesis, kardiovaskuler dan penuaan (Rohman dan Sugeng, 2005).

Didalam tubuh jumlah atau status antioksidan merupakan suatu parameter yang digunakan untuk memantau status kesehatan dari seseorang. Didalam tubuh sistem antioksidan dapat dibentuk secara kontinu oleh tubuh sendiri dimana senyawa ini berperan dalam menangkal radikal bebas. Dalam keadaan senyawa reaktif oksigen memiliki jumlah yang lebih banyak dari jumlah antioksidan yang ada di dalam tubuh, hal ini mengakibatkan senyawa reaktif oksigen ini dapat menyerang lipid, protein, maupun DNA (Winarsi, 2007).

2.4.2 Klasifikasi Antioksidan

Terdapat bermacam-macam pembagian antioksidan. Namun berdasarkan fungsinya antioksidan dapat dibagi menjadi berikut:

- 1) Antioksidan primer (endogen)

Antioksidan primer merupakan suatu antioksidan yang berfungsi sebagai pertahanan utama atau primer terhadap suatu kondisi stress oksidatif karena adanya radikal bebas. Antioksidan primer dalam tubuh lebih dikenal sebagai antioksidan enzimatis. Antioksidan ini bekerja dengan cara mencegah terbentuknya senyawa radikal bebas baru (Winarsi, 2007).

2) Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder merupakan suatu antioksidan yang memiliki sifat preventif. Senyawa ini bekerja dalam menangkap radikal bebas dan mencegah agar tidak terjadi reaksi berantai sehingga radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen selular dan kerusakan yang lebih besar bisa dihindari. Terdapat berbagai macam sumber antioksidan sekunder antara lain favonoid, vitamin E, vitamin C, karoten, asam urat, albumin bilirubin dll (Winarsi, 2007).

3) Antioksidan Tersier

Antioksidan ini merupakan antioksidan yang bekerja dalam perbaikan biomolekular yang mengalami kerusakan akibat dari reaktivitas radikal bebas. Contoh kelompok antioksidan tersier ini antara lain adalah sistem enzim DNA-*repiar* dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim ini dapat memperbaiki kerusakan pada DNA yang diakibatkan oleh paparan radikal bebas (Winarsi, 2007).

2.5 Apel

Apel adalah buah yang dibudidayakan diberbagai iklim belahan dunia, dan saat ini tumbuh di berbagai Negara dengan total produksi lebih dari 71 juta ton. Apel

dikonsumsi segar atau secara langsung setelah dipanen atau setelah periode penyimpanan hingga enam bulan atau bahkan lebih lama. Apel juga dapat diolah misalnya menjadi jus, saus, cuka, dan sari buah apel. Sebagian besar apel dibudidayakan berasal dari spesies *Malus domestica* dalam keluarga *rosaceae*. Lebih dari 7500 variets apel telah dideskripsikan diberbagai Negara (Sufrida dkk.,2007).

2.5.1 Apel Manalagi

Jenis apel dari Malang antara lain apel manalagi, *Rome Beauty*, dan *Princes Noble*. Apel malang banyak mengandung vitamin, contohnya seperti vitamin A,B, dan C serta mineral seperti kalsium, fosfor, zat besi, klor, magnesium, natrium, potassium dan silicon. Apel manalagi merupakan salah satu jenis apel lokal di Indonesia yang memiliki bentuk bulat dan kecil. Diameter buah apel ini sekitar 4-7 cm dengan berat 75-160 gram per buahnya. Warna dari kulit apel manalagi yaitu hijau kekuningan dengan semburat merah sebesar 1,5-2 % (Mianti, 2010).

2.5.2 Taksonomi

Tanaman apel termasuk dalam

Kingdom	:	<i>Plantae</i>
Divisio	:	<i>Spermatophyta</i>
Subdivision	:	<i>Angiospermae</i>
Klas	:	<i>dicotyledonae</i>
Ordo	:	<i>Rosales</i>
Family	:	<i>Rosaceae</i>

Genus : *Malus*
Spesies : *Malus syvestris* Mill.



Gambar 2.1 Apel Manalagi (*Malus syvestris* Mi) (Wulandari,2012).

2.5.3 Kandungan Apel

Apel memiliki kandungan flavonoid yang sangat tinggi. Flavonoid sebagai antioksidan inilah yang melindungi tubuh dari kerusakan yang diakibatkan dari radikal bebas. Terdapat perbedaan yang mencolok antara konsentrasi fitokimia yang dikandung di dalam kulit apel dan daging buahnya, senyawa phenol pada kulit lebih banyak daripada daging buahnya (Jannata dkk., 2014).

Kulit apel mengandung beberapa fitokimia turunan polifenol antara lain katekin, kuersetin, *phloridzin*, dan asam klorogenik. Katekin adalah golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan dan termasuk golongan favonoid. Kuersetin juga salah satu zat aktif golongan flavonoid (Jannata dkk., 2014).

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman, termasuk

dalam golongan senyawa fenolik dengan struktur kimia $C_6-C_3-C_6$. Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatic A, satu cincin aromatic B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya. Sistem penomoran digunakan untuk membedakan posisi karbon di sekitar molekulnya. Flavonoid dibagi dalam sub kelas misalnya flavonol, flavon, flavonon, flavononol, isoflavon, antosianidin, dan proantosianidin. Terdapat 3 subkelas utama dalam flavonoid yaitu flavonol, flavon, dan isoflavon. Pembagian ini berdasarkan ada tidaknya gugus keto pada posisi empat dari ikatan rangkap antara C2 dan C3 atau gugus hidroksil pada posisi 3 di cincin C (Redha, 2010). Tubuh perlu untuk mengkonsumsi flavonoid yang didalamnya mengandung kuersetin, sebanyak 50-800 mg/hari, agar mampu menjaga sistem pertahanan antioksidan dalam tubuh (Preedy, 2014).

Berbagai jenis senyawa, kandungan dan aktivitas antioksidatif flavonoid sebagai salah satu kelompok antioksidan alami yang terdapat pada sereal, sayur-sayuran, dan buah-buahan, telah banyak dipublikasikan. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon(Simanjutak, 2012).

Tabel 2.1 Kandungan gizi 100 gram apel (Margantan, 2001, Sa'adah dkk, 2004)

Kandungan	Kadar
Energi	58,00 kal
Karbohidrat	14,90 gram
Kalsium	6,00 mg

Fosfor	10,00 mg
Besi	1,30 mg
Serat	0,70 mg
Vitamin A	24,00 rpe
Kadar asam	0,32 gram
Vitamin C	6,60 mg
Glukosa	3,72 gram
Sukrosa	4,54 gram
Aktivitas antioksidan	6,53 gram
Fruktosa	4,5 gram
Total gula	8,29 gram

Tabel 2.2 Kandungan fitokimia apel (Lee *et al.*, 2003)

Kandungan	Kadar
Kuersetin glikosida	13.2 mg
Prosidanidin B2	9.35 mg
Asam klorogenat	9.02 mg
Epikatekin	8.65 mg
Floretin glikosida	5.59 mg
Vitamin C	12.8 mg

Kadar Kuersetin pada Buah Apel (Lee *et al.*, 2003)

Jenis Pengolahan	Varian Apel	Rata-rata Kuersetin	Kadar
Apel Segar	Red delicious	477.96	
	Manalagi	406.57	
	Fuji	272.89	
	Rome beauty	206.54	
Jus Apel (juicer)	Red delicious	242.96	
	Manalagi	185.22	
	Fuji	133.90	
	Rome beauty	98.85	
SmoothieApel (blending)	Red delicious	136.66	
	Manalagi	118.12	
	Fuji	86.12	
	Rome beauty	55.80	

2.6 Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) atau disebut juga tikus norwegia adalah salah satu hewan yang umum digunakan dalam eksperimental laboratorium.

2.6.1 Taksonomi

Taksonomi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut:

Kingdom	:	Animalia
Filum	:	Chordata
Kelas	:	Mamalia
Ordo	:	Rodentia
Subordo	:	Myomorpha
Family	:	Muridae
Genus	:	Rattus
Spesies	:	Rattus norvegicus



Gambar 2.2 Tikus putih (*Rattus norvegicus*) (Janvier Labs, 2013)

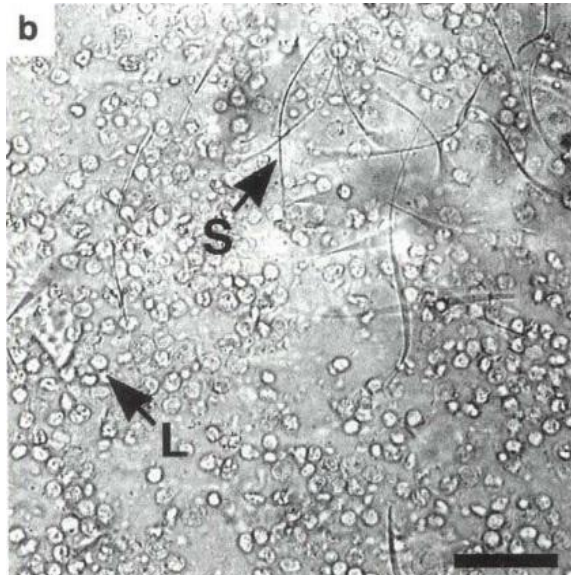
Tikus putih memiliki beberapa sifat yang menguntungkan sebagai hewan uji penelitian diantaranya berkembangbiakan cepat, mempunyai ukuran

yang lebih besar dari mencit, dan mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak. Tikus putih juga memiliki ciri-ciri morfologis seperti albino, kepala kecil, dan ekor yang lebih panjang dibandingkan badannya, pertumbuhannya cepat, temperamennya baik, kemampuan laktasi tinggi, dan cukup tahan terhadap perlakuan. Biasanya pada umur empat minggu tikus putih mencapai berat 35-40 gram, dan berat dewasa rata-rata 200-250 gram (Ayue, 2015).

2.6.2 Kebuntingan Tikus Putih

Kehamilan tikus putih terjadi selama 21-22 hari. Dalam kontrol pencahayaan (14 jam terang, 10 jam gelap), 37% tikus lahir di siang hari ke-21, 20% tikus lahir selama malam hari pada hari ke-21 menuju hari ke-22 dan 42% tikus lahir di siang hari pada hari ke-22. Puncak kelahiran terjadi pada pukul 13.00 -15.00 pada hari ke-21 dan 09.00-11.00 pada hari ke-22 (Krinke, 2000).

Kehamilan tikus putih dapat dibuat dengan mengawinkan tikus betina dan tikus jantan. Untuk mengawinkan, tikus jantan dimasukan ke kandang tikus betina yang sudah cukup umur dan ditinggal semalaman. Apusan vagina dapat dilakukan pada keesokan paginya. Apusan akan mengandung sejumlah sperma jika kopulasi sudah terjadi. Selain itu, dapat juga ditemukan sumbatan vagina padaa tikus betina yang telah kawin. Sumbatan ini berupa air mani yang menjendal berwarna kekuningan berasal dari sekresi kelenjar khusus tikus jantan dan sebagai penetap awal kehamilan (Krinke, 2000).



**Gambar 2.3 Apusan Vagina Tikus Putih Betina Setelah Perkawinan
(Krinke, 2000)**

Pertumbuhan pada tikus rata-rata 1 gram per hari. Laju pertumbuhan hewan dipengaruhi oleh spesies, individu, jenis kelamin, umur hewan, pemberian pakan yang cukup. Kebutuhan pakan tikus setiap harinya yaitu 3-5 gram dan jika kebutuhan minum harus air bersih, air minum yang diperlukan untuk seekor mencit setiap hari berkisar antara 4-8 ml (Smith, 2007).

Tabel 2.3 data biologis tikus (Smith dalam Andri, 2007)

kriteria	keterangan
Lama bunting	19-21 hari
Umur disapih	21 hari
Umur dewasa	35 hari
Umur dikawinkan	8 minggu
Berat dewasa jantan	20-40 gram
Berat dewasa betina	18-35 gram
Berat lahir	0,5-1,0 gram

Berat sapih	18-20 gram
Jumlah anak	Rata-rata 6, dapat 15 ekor
Kecepatan tumbuh	1 gram/hari
Siklus estrus	4-5 hari
Perkawinan	Pada waktu estrus
Fertilitas	Dua jam setelah kawin
aktivitas	Nokturnal (malam)

Pada beberapa mamalia siklus reproduksi disebut juga sebagai siklus estrus. Estrus adalah suatu periode secara psikologis maupun fisiologis yang bersedia menerima pekatan untuk berkopulasi. Siklus estrus merupakan cerminan dari berbagai aktivitas yang saling berkaitan antara hipotalamus, hipofisis, dan ovarium. Selama siklus estrus terjadi berbagai perubahan baik pada organ reproduksi maupun pada perubahan tingkah laku seksual (Krinke, 2000).

Tikus dan mencit termasuk hewan poliestrus yang artinya, dalam periode satu tahun terjadi siklus reproduksi yang berulang-ulang. Siklus estrus bisa selesai dalam 6 hari. Meskipun pemilihan waktu siklus dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor eksteroseptif seperti cahaya, suhu, status nutrisi dan hubungan social. Setiap fase dari daur estrus dapat dikenali melalui pemeriksaan apus vagina. Apus vagina merupakan cara yang sampai kini dianggap relatif paling mudah dan murah untuk mempelajari kegiatan (Ayue, 2015).

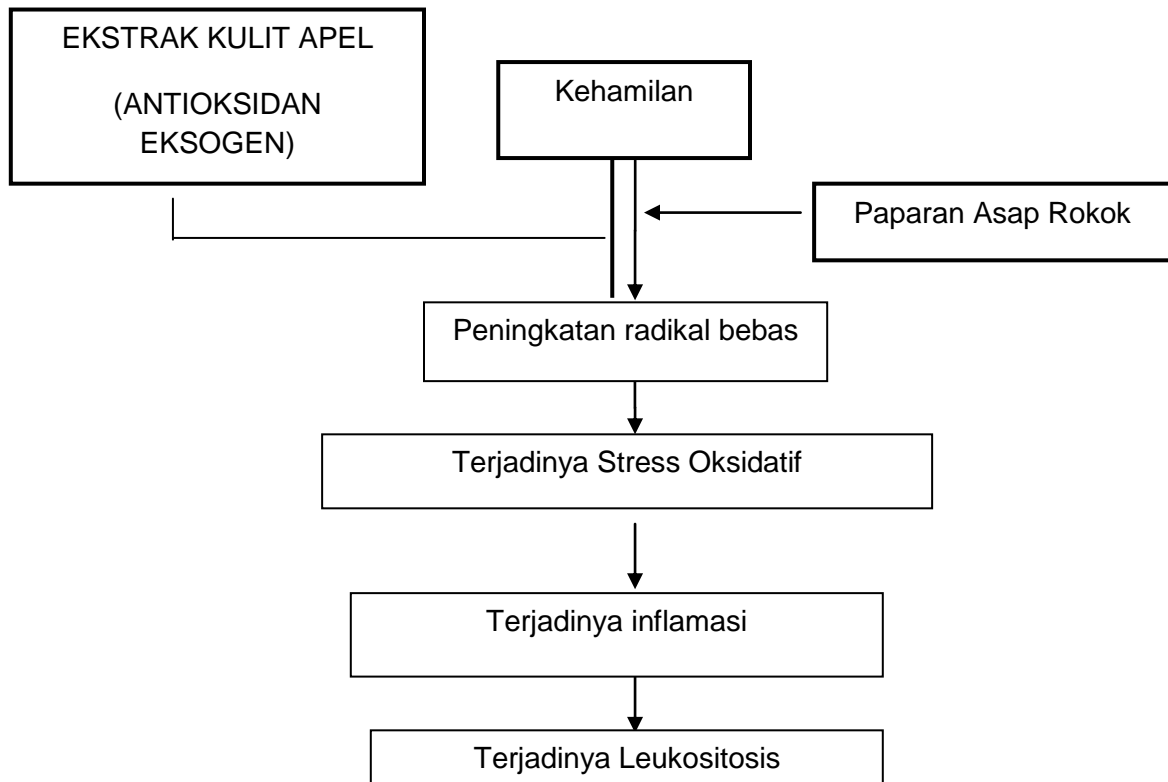
2.6.3 Hematologi tikus

Volume total darah pada tikus adalah 50-70 mL/KgBB atau rata-rata yaitu 64 mL/KgBB (Krinke, 2000). Nilai hematologi tikus jantan adalah: eritrosit 6,85- 8,53 juta/ μ l; leukosit 7,475-11.700 μ l; hemoglobin 12,48- 14,63 g/dl; trombosit 56,1750-948,000 μ l. Sedangkan pada tikus betina: eritrosit 6,72-7,76 juta/ μ l; leukosit 5,300-10,280 μ l; hemoglobin 12,48-14,58 g/dl dan trombosit 317,400-660,000 μ l (sulaksono,2002).

BAB 3

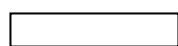
KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Skema 3.1 KerangkaKonsep

Keterangan



: Variabel yang diukur dalam penelitian



: menyebabkan



:Menghambat

Penjelasan Kerangka Konsep

Asap rokok mengandung oksidan konsentrasi tinggi. Ketika ibu hamil menghirup asap rokok, oksidan ini masuk ke dalam tubuh dan mengalami oksidasi dengan cara mendonorkan elektron molekul oksigen terutama di sel epitel paru yang akan menghasilkan radikal bebas sehingga dapat meningkatkan ROS (*Reactive Oxygen Species*).

Peningkatan ROS (*Reactive Oxygen Species*) dalam tubuh menyebabkan antioksidan alamiah tubuh tidak lagi adekuat untuk menekan produksi ROS. Hal ini akan mengakibatkan produksi ROS sebagai molekul yang reaktif terus berlebihan sehingga menyebabkan peningkatan jumlah sitokin pro inflamasi dalam tubuh. Peningkatan sitokin pro inflamasi memiliki peran dalam meningkatkan jumlah leukosit, padahal secara fisiologis ibu hamil sendiri jumlah leukosit sudah meningkat sejak trimester pertama apalagi ini ditambah terpapar asap rokok, sehingga dapat menyebabkan terjadinya inflamasi dan leukositosis.

Jika radikal bebas terus meningkat maka perlu tambahan antioksidan dari luar, salah satunya ekstrak etanol kulit apel yang mengandung flavonoid. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon. Dengan diberikannya ekstrak etanol kulit apel pada tikus bunting yang dipapar asap rokok diharapkan dapat menghambat terjadinya leukositosis dan dapat menurunkan jumlah leukosit yang dipapar asap rokok.

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol kulit apel (*Malus sylvestris*) dapat mencegah peningkatan jumlah leukosit pada tikus (*Rattus novergicus*) bunting yang dipapar rokok.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya penelitian ini dinyatakan layak Etik dengan No. 235/ EC / KEPK – S1 – KB / 10 / 2018. Penelitian ini merupakan penelitian *desain true experimental* dengan rancangan penelitian *Randomized Post Test Only Control Grup design*. Penelitian hanya dilakukan sesudah perlakuan (*post test*) dengan membandingkan jumlah leukosit antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (K-) dan kelompok kontrol positif (K+). Kelompok kontrol negatif (K-) adalah tikus bunting yang tanpa dipapar asap rokok dan ekstrak etanol kulit apel. Kelompok kontrol positif (K+) adalah tikus bunting yang hanya dipapar asap rokok tanpa diberikan ekstrak etanol kulit apel. Kelompok perlakuan terdiri dari 3 kelompok, diberikan perlakuan berupa paparan asap rokok dan diberikan ekstrak etanol kulit apel dengan dosis yang berbeda. Paparan asap rokok dan pemberian ekstrak etanol kulit apel dilakukan mulai hari ke-6 sampai ke-18 kebuntingan. Pengukuran jumlah leukosit akan dilakukan pada hari ke-19 kebuntingan.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan tikus jenis *Rattus norvegicus* bunting sebagai hewan coba. Tikus diperoleh dan dipelihara di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Estimasi jumlah sampel pada penelitian ini

adalah jumlah pengulangan (n) untuk masing-masing perlakuan (p) yang dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Solimun, 2001) dengan p=5 adalah:

$$P(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 20:5$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan hasil perhitungan maka dilakukan minimal 4 kali pengulangan tiap kelompok. Dalam penelitian digunakan 5 sampel untuk masing-masing kelompok, sehingga jumlah keseluruhan sampel tikus dalam penelitian ini adalah $5 \times 5 = 25$ ekor tikus.

4.2.1 Kriteria Inklusi

- 1) Tikus betina *Rattus novergicus* galur wistar bunting.
- 2) Tikus dalam keadaan sehat dengan nafsu makan baik dan bergerak aktif.
- 3) Usia tikus 8-12 minggu
- 4) Berat badan antara 150-200 gram

4.2.2 Kriteria Eksklusi

- 1) Tikus yang kondisinya menurun
- 2) Terlalu cepat melahirkan (prematur)

- 3) Ketika pembedahan pada hari 19 kebuntingan tidak ditemukan bayi dan plasenta tikus.

4.2.3 Prosedur dan Teknik Pengambilan Sampel

Penentuan subjek dalam penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dalam pengelompokan dan pemberian perlakuan dengan teknik randomisasi sederhana. Metode ini dianggap cocok digunakan karena hewan coba, bahan pakan dan bahan penelitian bersifat homogen menggunakan Teknik RAL (Rancangan Acak Lengkap). Hewan coba pada metode ini memiliki peluang yang sama untuk digunakan sebagai sampel pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

4.3 Variabel Penelitian

- 1) Variabel bebas: kandungan dalam paparan asap rokok dan ekstrak etanol kulit apel manalagi dalam 3 dosis.
- 2) Variabel terikat: jumlah leukosit pada tikus (*Rattus Novergicus*) bunting.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.4.1 Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dan Analisa jumlah leukosit pada darah tikus (*Rattus Novergicus*) bunting dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.4.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilakukan selama kurang lebih 2 bulan.

4.5 Bahan dan Alat Penelitian

4.5.1 Bahan untuk Pemeliharaan Hewan Coba

Makanan yang diberikan pada hewan coba adalah pakan tenak pelet BR 1 dan air dari keran.

4.5.2 Bahan untuk Perlakuan Hewan Coba

Rokok kretek yang didapatkan dari pasar didaerah kota Malang dan ekstrak etanol kulit apel (*Malus sylvestris Mill*) sebagai bahan penelitian yang didapatkan dari daerah Bumiaji, Kota Batu Malang.

4.5.3 Bahan Pembedahan Hewan Coba

Bahan yang digunakan untuk pembedahan adalah ketamin 0,1 cc.

4.5.4 Bahan Pengukuran Jumlah Leukosit

Bahan untuk mengukur jumlah leukosit adalah darah dari jantung tikus bunting.

4.5.5 Alat Pemeliharaan Hewan Coba

Kandang tikus yang berupa kotak plastik berukuran 45 x 35 x 12 cm sebanyak 5 buah dengan masing-masing kandang ditempati 5 ekor tikus bunting. Yang diisi dengan sekam dan ditutup dengan kawat berjaring, diberikan tempat makan dan minum tikus.

4.5.6 Alat Penimbangan Berat Badan Hewan Coba

Alat untuk penimbangan berat badan hewan coba adalah neraca digital analitik (gram).

4.5.7 Alat Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Apel

Alat pembuatan ekstrak etanol kulit apel menggunakan pisau, wadah, *oven*, *blender*, timbangan, kertas saring, *rotary evaporator*, botol plastik/kaca, *freezer*.

4.5.8 Alat Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Apel pada Hewan Coba

Alat pemberian ekstrak etanol kulit apel manalagi pada hewan coba adalah sonde dan *sprit* tanpa jarum 3 ml.

4.5.9 Alat Pemaparan Asap Rokok pada Hewan Coba

Alat untuk pemaparan asap rokok pada hewan coba menggunakan *smoking pump* buatan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Alat ini berupa sebuah kotak yang terbuat dari *fiberglass*, yang terdiri dari tiga ruangan yang masing-masing berukuran 26 x 12 x 12 cm. Pada setiap ruangan terdapat pipa sebagai pengalih asap rokok. Ketiga pipa keluar menyatu dengan pipa yang dipasangi rokok. Selain itu, terdapat pula pompa yang berfungsi sebagai penghisap rokok yang kerjanya dibantu dengan adanya adaptor. Selanjutnya terdapat dua klep yang dapat membuka dan menutup secara otomatis saat penghisapan dan penutupan asap rokok yang keluar masuk kotak.

4.5.10 Alat Pembedahan dan Pengambilan Sampel Darah Hewan Coba

Kapas, *scalpel*, gunting, pinset, jarum pentul, alas kayu, sarung tangan, *sprit* 3 ml, tabung *container* yang berisi EDTA 2 ml dengan pengambilan darah sebanyak 2 ml.

4.5.11 Alat Pengukur Jumlah Leukosit

Alat pengukur Jumlah leukosit adalah ABX micros 60 (*Hematology Analyzer*).

4.6 Definisi Operasional

1) Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah tikus (*Rattus Novergicus*) bunting dengan usia 8-12 minggu dengan berat 150-200 gram.

2) Tikus Bunting

Tikus bunting adalah tikus betina yang telah dikawinkan dengan tikus jantan dan memperlihatkan tanda-tanda kebuntingan yakni terdapat *vaginal plaque* yang merupakan penggumpalan air mani. Pada tikus bunting, abdomen dapat dipalpasi pada hari ke-12 kebuntingan.

3) Usia Kebuntingan Tikus

Usia kebuntingan tikus dihitung sebagai hari ke-1 pada saat muncul sumbat vagina (*vaginal plaque*) sampai hari ke-18, pengecekan dilakukan dengan pemeriksaan *vaginal plague* dan *vaginal swab*.

4) Asap Rokok

Paparan asap rokok akan dimulai pada hari ke-6 sampai hari ke-18 menggunakan rokok kretek yang dipaparkan dengan alat *smooking pump* milik Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Paparan rokok diberikan 1 batang per hari selama 7,5 menit.

5) Ekstrak Etanol Kulit Apel Manalagi

0Ekstrak Etanol kulit apel Manalagi adalah kulit apel yang diproses dengan dicuci, dioven dan diberi beberapa bahan lainnya. Apel manalagi (*Malus sylvestris Mill*) yang digunakan adalah jenis yang gampang dijumpai di daerah Batu Malang.

6) Variabel yang diukur

a) Jumlah total leukosit

Jumlah total leukosit akan diukur dari darah hewan coba yang diambil dari jantung tikus (*Rattus norvegicus*) sebanyak 2 ml pada hari ke-19 atau saat melahirkan dan diukur menggunakan ABX Micros 60 (*Hematology Analyzer*) dalam satuan $10^3/\mu\text{L}$.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Adaptasi Hewan Coba

Adaptasi hewan coba dilakukan minimal selama 7 hari terhadap makanan dan suhu di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.7.2 Prosedur Pembuntingan Hewan Coba

Pembuntingan dilakukan pada saat tikus betina memasuki fase estrus (birahi). Pengawinan dilakukan dengan mencampurkan tikus jantan dan betina dengan perbandingan 1:1 dalam 1 kandang. Pembuntingan dimulai pada siang hari, keesokan harinya dilakukan pengecekan, apabila ditemukan *vaginal plaque*, maka hari tersebut diduga sebagai hari pertama kebuntingan. Tikus yang telah bunting ditandai dan dimasukkan ke dalam kelompok yang

sudah ditentukan, sedangkan tikus yang belum bunting dicampur kembali dengan tikus jantan.

4.7.3 Pembagian Kelompok Hewan Coba

Dari 25 ekor sampel hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan secara randomisasi yang masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus dengan rincian sebagai berikut:

1. Kelompok kontrol negatif (K-): tikus bunting yang tidak dipapar asap rokok dan tidak diberikan ekstrak etanol kulit apel.
2. Kelompok kontrol positif (K+): tikus bunting yang hanya dipapar asap rokok tanpa diberikan ekstrak etanol kulit apel.
3. Kelompok perlakuan 1 (P1): tikus bunting yang dipapar asap rokok dan diberikan ekstrak etanol kulit apel dengan dosis 7 mg/KgBB.
4. Kelompok perlakuan 2 (P2): tikus bunting yang dipapar asap rokok dan diberikan ekstrak etanol kulit apel dengan dosis 14 mg/KgBB.
5. Kelompok perlakuan 3 (P3): tikus bunting yang dipapar asap rokok dan diberikan ekstrak etanol kulit apel dengan dosis 28 mg/KgBB.

4.7.4 Penentuan dosis Ekstrak Etanol kulit Apel Manalagi

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh suparni dkk (2014) tentang uji aktivitas ekstrak etanol kulit buah apel (*pyrus malus*) terhadap penurunan permeabilitas vaskuler pada mencit putih jantan strain balb/c telah terbukti bahwa ekstrak etanol kulit apel mampu menurunkan permeabilitas vaskuler berturut-turut sebesar 0,2, 0,4, dan 0,8 mg/20g BB mencit peoral. Oleh karena itu, peneliti akan menggunakan dosis 2, 4, dan 8 mg/200g tikus dalam penelitian

ini. Oleh karena itu, peneliti mengkonversi dosis tersebut ke tikus dengan berat 200 g dengan cara mengkonversikannya yaitu: $0,2 \text{ mg}/20\text{gBB} \times 7 = 1,4 \text{ mg}/200\text{gBB}$ atau $7 \text{ mg}/\text{KgBB}$, $0,4 \text{ mg}/200\text{gBB} \times 7 = 2,8 \text{ mg}/200\text{gBB}$ atau $14 \text{ mg}/\text{KgBB}$, $0,8 \text{ mg}/20\text{gBB} \times 7 = 5,6 \text{ mg}/200\text{gBB}$ atau $28 \text{ mg}/\text{KgBB}$.

4.7.5 Prosedur Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Apel

- 1) Mencuci kulit apel (*Malus sylvestris*) hingga bersih,
- 2) Kulit apel manalagi (*Malus sylvestris*) dipotong kecil-kecil,
- 3) Selanjutnya, dioven pada suhu 40° – 60°C atau dikeringkan dengan matahari,
- 4) Setelah kering, diblender dan diayak sampai menjadi bubuk halus.
- 5) Bubuk halus tersebut selanjutnya ditimbang sebanyak 100 g,
- 6) Selanjutnya, direndam dengan etanol sampai dengan 1000 ml (1liter).
- 7) Lalu dikocok selama 30 menit dan direndam 1 malam sampai mengendap,
- 8) Diambil lapisan atas yang merupakan campuran etanol dan zat aktif,
- 9) Lakukan langkah 7 dan 8 sebanyak 3 kali,
- 10) Kemudian masukkan ke labu evaporasi 1 liter,
- 11) Labu evaporasi dipasangkan pada evaporator,
- 12) Setelah itu, *water bath* diisi air sampai penuh,
- 13) Suhu *water bath* diatur samapai 90°C atau sesuai dengan titik didih pelarut,
- 14) Semua rangkaian alat dipasang dan disambung dengan aliran listrik,
- 15) Pelarut dibiarkan terpisah dengan zat aktif,

- 16) Aliran pelarut dibiarkan sampai berhenti menetes pada labu penampung (\pm 1,5 -2 jam)
- 17) Setelah itu didapatkan hasil ekstraksi kira-kira 1/5 bagian dari bahan kering,
- 18) Hasil ekstraksi dimasukkan ke botol plastik/ kaca dan disimpan di dalam freezer.

4.7.6 Prosedur Pemeliharaan Hewan Coba

Hewan coba diadaptasi selama 7 hari. Persiapan kandang-kandang yang digunakan dari kotak plastik berukuran 45 x 35 x12 masing-masing untuk 5 ekor tikus ditutup dengan kawat kasa diberi alas sekam yang diganti seminggu 2 kali. Pemberian pakan ternak diberikan setiap hari sekali, sebanyak 40 g/hari/kandang.

4.7.7 Prosedur Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) pada Hewan Coba

Ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris*) yang telah diencerkan diberikan mulai hari ke-6 kebuntingan sampai hari ke-18 kebuntingan. Ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris*) diberikan peroral dengan menggunakan sonde. Pemberian ekstrak etanol kulit apel diberikan setelah dipapar asap rokok dihari yang sama.

4.7.8 Prosedur Pemaparan Asap Rokok pada Hewan Coba

Pemaparan asap rokok dilakukan pada hari ke-6 hingga hari ke-18 kebuntingan. Rokok yang digunakan sebanyak 1 batang rokok kretek dengan paparan selama 7,5 menit untuk 3 ekor tikus bunting dalam satu kali

pemaparan. Prosedur pemaparan asap rokok pada tikus adalah sebagai berikut (standar pemaparan asap rokok Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya)

- 1) Tikus ditimbang berat badannya dengan neraca digital analitik sebelum dipapar asap rokok,
- 2) Tempat pemaparan dibersihkan dari kotoran dan sisa asap rokok,
- 3) Nikotin yang melekat di *smoking pump* dibersihkan terlebih dahulu,
- 4) *Power* dan *self voltage* diperiksa,
- 5) Rokok dipasang pada pipa sampai batas merah
- 6) Tiga ekor tikus bunting dimasukkan ke dalam kotak dan segera ditutup, karena pada *smoking pump* hanya terdapat tiga ruangan,
- 7) Setiap pemaparan asap rokok dilakukan dengan menjalankan pompa selama 7,5 menit untuk satu batang rokok, kemudian alat dimatikan, penutup dibuka, dan selanjutnya tikus yang telah selesai dipaparkan asap rokok segera dipindahkan ke kandang.
- 8) Setiap pemaparan berikutnya kotak selalu dibersihkan dahulu dari sisa asap rokok hasil perlakuan sebelumnya,
- 9) Pompa tetap dijalankan tanpa rokok untuk mengeluarkan sisa asap,
- 10) Tahap-tahap diatas diulang untuk kelompok tikus berikutnya.

4.7.9 Prosedur Pembedahan dan Pengambilan Sampel Darah Hewan

Coba

hSesuai dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dengan No. 235/ EC / KEPK – S1 – KB / 10 / 2018.

Pembedahan pada hari ke-19 tikus untuk dilakukan pengukuran kadar hemoglobin (Hb), jumlah leukosit, dan kadar serum LDL dengan pengambilan sampel darah. Pada pengambilan plasenta dilakukan pengukuran aktivitas SOD (*Superoksida Dismutase*), pengukuran kadar MDA, kemudian plasenta dipisahkan dengan bayi tikus lalu dilakukan penimbangan pada plasenta dan fetus tikus. Namun disini peneliti hanya meneliti jumlah leukosit pada darah.

Sebelum pembedahan, tikus diterminasi dengan injeksi ketamin 0,1 cc pada paha secara IM. Setelah tikus dipastikan tidak sadar Kemudian dilakukan pembedahan dan pengambilan sampel darah dilakukan dengan mengambil darahnya dari jantung sebanyak 2 ml dengan menggunakan *sprit* 3 ml. kemudian sampel darah tersebut dipindahkan ke dalam tabung *container* berisi EDTA 2 ml kemudian dikirim ke Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk dilakukan pemeriksaan darah lengkap. Selanjutnya bangkai induk dan anak tikus yang sudah tidak digunakan dikubur dengan kedalaman tanah minimal 50 cm.

4.7.10 Prosedur Pengukuran Jumlah Leukosit

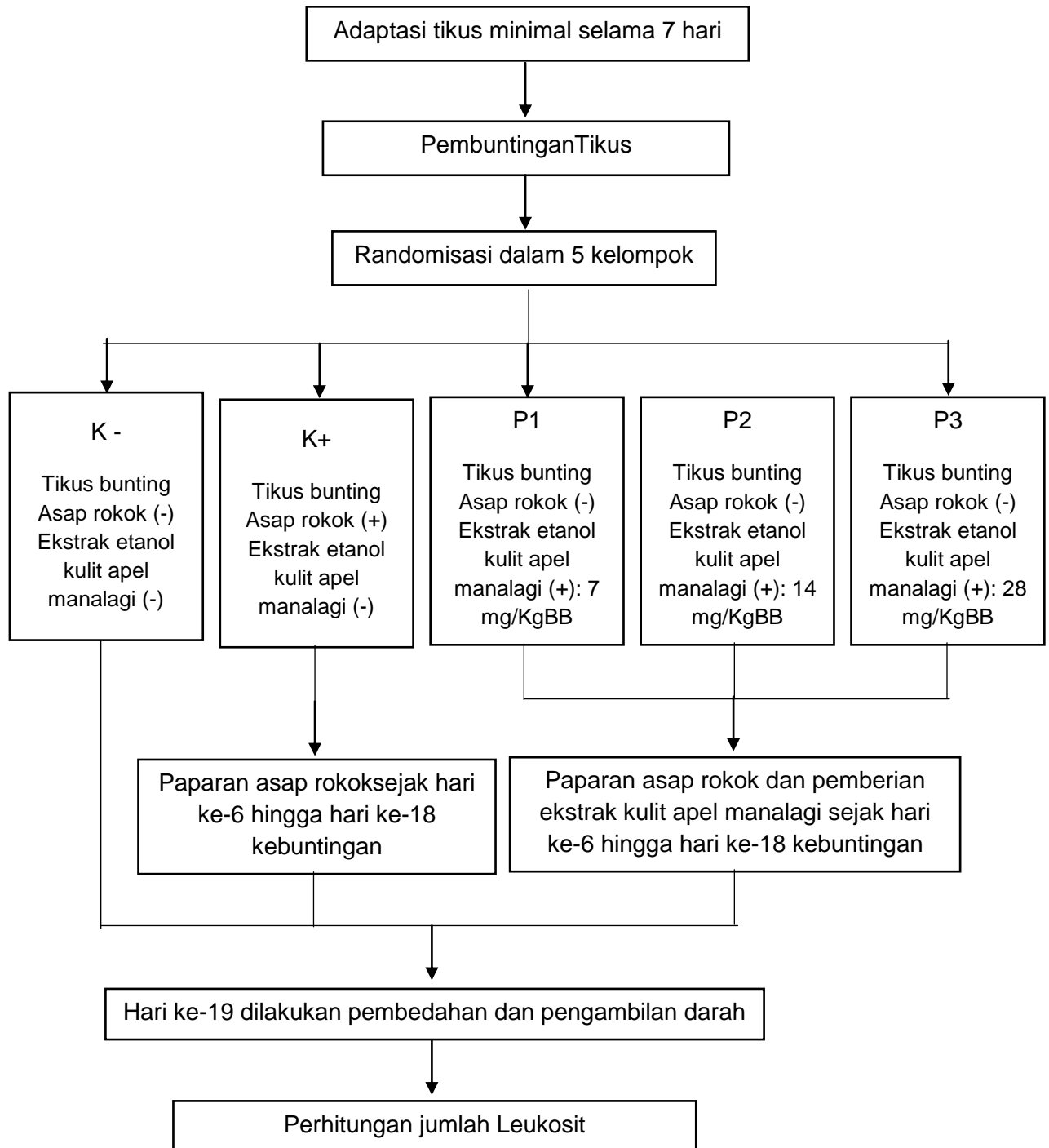
Teknik pemeriksaan dan perhitungan jumlah leukosit, dengan cara mengambil darah sebanyak 2ml ditambahkan EDTA ditempatkan dalam tabung steril. Sampel darah diperiksa dengan alat ABX Micros 60 (*Hematology Analyzer*), dengan langkah-langkah sebagai berikut (*ABX Micros 60 User Manual*):

- 1) Prinsip penggunaan alat berdasarkan spesifikasi ukuran sel yang melewati afilter dengan memakai tegangan listrik untuk sekali pembacaan bisa

diperiksa sekaligus beberapa parameter seperti Hb,Ht, leukosit, eritrosit, MCH, MCHC, dan MCV.

- 2) Cara kerja menggunakan alat ABX Micros 60, dengan menyalakan *switch* utama, terletak di belakang instrumen.
- 3) Setelah lampu indikator menyala, tekan tombol *start up*, maka secara otomatis alat akan menampilkan nilai nol untuk setiap parameter pemeriksaan dan jika tidak, maka secara otomatis alat akan melakukan pembilasan ulang dan pemeriksaan reagen sampai tiga kali sehingga didapatkan angka nol untuk setiap parameter pemeriksaannya.
- 4) Tekan tombol *start*.
- 5) Siapkan bahan pemeriksaan (darah EDTA).
- 6) Tekan tombol *ID*, tekan tombol *enter* tunggu sampai jarum penghisap darah keluar.
- 7) Tempelkan alat penghisap sampai dasar tabung kemudian tekan *sampelbar* sampai jarum masuk kembali dan melakukan pemeriksaan.
- 8) Alat akan memproses sampel selama satu menit dan hasil pemeriksaan akan tambak pada layar.
- 9) Untuk mematikan alat, tekan *stand by* maka alat akan mencuci selama satu menit, setelah layar padam mematikan alat dengan menekan *switch* utama yang terletak di bagian belakang.

4.8 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Skema Alur Penelitian

4.9 Analisis Data

Hasil pengukuran jumlah total leukosit yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis secara statistik dengan menggunakan program SPSS 23.0 *for Windows* dengan tingkat signifikansi 0.5 ($p < 0.05$) dan taraf kepercayaan sebesar 95% ($\alpha = 0,05$). Berikut merupakan langkah-langkah uji data yaitu :

- 1) Uji normalitas data: bertujuan untuk mengetahui apakah data memiliki distribusi normal atau tidak. Untuk uji hipotesis, jika distribusi data normal menggunakan uji parametrik.
- 2) Uji homogenitas varian: jika varian dalam kelompok homogen, maka asumsi untuk menggunakan Anova terpenuhi.
- 3) Uji *one way Anova*: bertujuan untuk membandingkan nilai rata-rata dari masing-masing kelompok perlakuan terdapat perbedaan atau tidak.
- 4) *Post Hoc test*: bertujuan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari uji Anova. Uji *Post Hoc* yang digunakan adalah uji *Turkey HSD* dengan tingkat signifikansi 95% ($p < 0.05$)
- 5) Uji Korelasi Pearson: bertujuan untuk mengetahui hubungan secara signifikan yang telah ditentukan sebelumnya dari hasil Uji *Post Hoc Turkey HSD*.

BAB 5

HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Pengukuran

Hasil pengukuran rata-rata jumlah leukosit serum darah tikus (*Rattus novergicus*) di sajikan ke dalam tabel 5.1 sebagai berikut.

Tabel 5.1 Hasil Pengukuran Rata-Rata Jumlah Leukosit Darah Tikus setelah Dipapar Asap Rokok dan Diberikan Ekstrak Etanol Kulit Apel dengan Berbagai Dosis

Kelompok	Rata-rata Leukosit ($10^3/\mu\text{L}$)	Standar Deviasi
K-	6,46	0,996
K+	12	1,581
P1	9,02	1,736
P2	7,52	1,008
P3	6,89	0,758

Keterangan

K-: tanpa dipapar asap rokok dan tanpa pemberian ekstrak etanol kulit apel

K+: pemaparan asap rokok tanpa pemberian ekstrak etanol kulit apel

P1: pemaparan asap rokok dan diberi ekstrak etanol dosis 7 mg/KgBB/hari dimulai hari ke 6 kebuntingan sampai hari ke 18 kebuntingan.

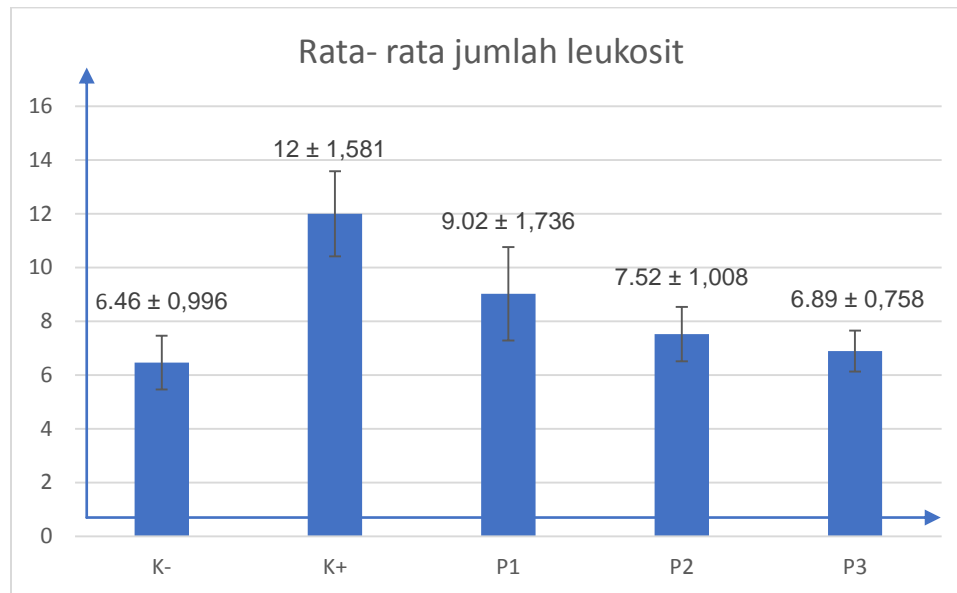
P2: pemaparan asap rokok dan diberi ekstrak etanol dosis 14 mg/KgBB/hari dimulai hari ke 6 kebuntingan sampai hari ke 18 kebuntingan.

P3: pemaparan asap rokok dan diberi ekstrak etanol dosis 28 mg/KgBB/hari dimulai hari ke 6 kebuntingan sampai hari ke 18 kebuntingan.

Pengukuran leukosit menunjukkan bahwa pada kelompok K (-) didapatkan jumlah leukosit darah paling rendah diantara kelompok lain yaitu $6,46 \times 10^3/\mu\text{L}$. Sedangkan pada kelompok K (+) didapatkan jumlah leukosit darah tikus paling tinggi yaitu sebesar $12 \times 10^3/\mu\text{L}$. Pada kelompok P1, P2, dan P3 didapatkan jumlah leukosit darah yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok K (+). Kelompok P1 memperlihatkan jumlah leukosit darah tertinggi diantara kelompok perlakuan yang lainnya yaitu sebesar $9,02 \times 10^3/\mu\text{L}$, diikuti oleh kelompok P2 sebesar $7,52 \times 10^3/\mu\text{L}$ dan yang terendah diantara kelompok perlakuan adalah pada P3 sebesar $6,89 \times 10^3/\mu\text{L}$. Dapat disimpulkan semakin tinggi dosis ekstrak etanol kulit apel yang diberikan, didapatkan hasil dari rata-rata jumlah leukosit darah pada tikus semakin rendah.

5.2 Analisa Data

Analisa yang digunakan terhadap pengukuran jumlah leukosit ini dianalisis secara statistik dengan menggunakan program SPSS 23.0 *for Windows*7. Pada uji normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk dikarenakan sampel kurang dari 50. Pada uji Shapiro-Wilk nilai $p = 0,970$ ($p > 0,05$) menunjukkan hasil tersebut normal. Kemudian dilakukan uji homogenitas yang mana menggunakan uji Levene statistik dengan memperoleh hasil $p = 0,303$ ($p > 0,05$) yang menunjukkan data tersebut bersifat homogen. Dari hasil uji normalitas dan uji homogenitas menunjukkan hasil bahwa syarat untuk uji *Oneway* ANOVA sudah terpenuhi.



Pada hasil Uji *Oneway* ANOVA didapatkan hasil $p=0,000$ ($p<0,05$). Dengan demikian hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada semua kelompok perlakuan. Pemberian ekstrak etanol kulit apel dengan dosis 7 mg/KgBB/hari, 14 mg/KgBB/hari dan 28mg/KgBB/hari memberikan pengaruh secara nyata terhadap penurunan jumlah leukosit. Selanjutnya untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan, maka dilakukan uji Post Hoc dari hasil uji *Oneway* ANOVA, yaitu dengan uji *Tukey-HSD*

Tabel 5.3 Hasil Uji Turkey-HSD

Kelompok	K-	K+	P1	P2	P3
K-		0,000*	0,034*	0,684	0,981
K+			0,011*	0,000*	0,000*
P1				0,368	0,101
P2					0,936
P3					

$P<0,05$ = bermakna (*)

Berdasarkan tabel diatas dari hasil uji *Tukey HSD* dilakukan perbandingan antara kelompok K(-) dengan kelompok K(+) dengan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna pada kelompok K- dengan K+. Kelompok K(-) dengan kelompok P1, P2, dan P3 menunjukkan bahwa hanya pada kelompok P1 yang terdapat perbedaan dengan kelompok (K-) dengan nilai $p = 0,034$ ($p < 0,05$). Kelompok K(+) dengan kelompok P1, P2, dan P3 menunjukkan pada semua kelompok terdapat perbedaan bermakna pada kelompok (K+). Dari tabel tersebut mendapatkan hasil bahwa dosis P2 dan P3 telah memiliki perbedaan yang signifikan atau bermakna dimana dosis tersebut dapat menurunkan jumlah leukosit.

Untuk mengetahui hubungan antara ekstrak etanol kulit apel dengan jumlah leukosit darah, maka dilakukan uji korelasi *Pearson*. Dari perhitungan statistik menggunakan korelasi *Pearson* didapatkan hasil koefisien korelasi $r = -0,761$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa adanya hubungan yang kuat antara pemberian ekstrak etanol kulit apel dengan pencegahan peningkatan jumlah leukosit darah secara signifikan ($p = 0,000$) ($p < 0,05$). Arah korelasi bernilai negatif yang berarti semakin tinggi dosis ekstrak etanol kulit apel yang diberikan maka semakin rendah jumlah leukosit darah. Sedangkan untuk mengetahui presentasi jumlah leukosit darah yang dipengaruhi oleh ekstrak etanol kulit apel, maka digunakan uji regresi.

Berdasarkan uji regresi dinyatakan dengan nilai determinasi (R^2). Uji tersebut menunjukkan nilai R^2 sebesar sebesar 0,579 yang berarti pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit apel terhadap pencegahan peningkatan jumlah leukosit adalah

57,9% sedangkan 42,1 % dipengaruhi oleh faktor-faktor selain dari pemberian ekstrak etanol kulit apel.

BAB 6

PEMBAHASAN

Dari hasil pengukuran jumlah leukosit darah pada K +dibandingkan dengan dengan K- $p= 0,000$ ($p<0,05$) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna pada kelompok K+ dengan K-. Kelompok K+ merupakan kelompok dengan jumlah leukosit tertinggi diantara kelompok lainnya yang mana telah diberi paparan asap rokok sejak kebuntingan hari ke6 sampai hari ke 18 kebuntingan.

Pada kelompok K+ jumlah leukosit mengalami peningkatan dikarenakan radikal bebas dalam asap rokok akan menghasilkan ROS berlebih, yang merupakan oksidasi utama dalam tubuh. Ketika ROS berlebih, antioksidan dalam tubuh tidak dapat untuk menetralkan ROS sehingga akan menyebabkan terjadi ketidakseimbangan akibat tingginya kadar oksidan yang tidak dapat di kompensasi oleh tubuh. Ketika radikal bebas berlebih yang mana disertai dengan ketidakmampuan antioksidan dari dalam tubuh untuk menetralkan maka akan terjadi stress oksidatif. Stress oksidatif ditandai dengan meningkatnya radikal oksigen dan reaksi inflamasi berupa peningkatan jumlah leukosit. Pada kondisi normal, ROS akan ditanggulangi oleh antioksidan dalam tubuh seperti SOD (*Superoxide Dismutase*), katalase, GSH (*Glutathione Peroxidase*), ataupun dapat dibentuk dari antioksidan luar (Mazzone *et al.* 2010).

Di masa kehamilan, peningkatan jumlah leukosit di dalam darah merupakan keadaan fisiologis. Efek ini terjadi akibat toleransi ibu terhadap antigen jaringan asing dari janin yang bersifat semialogenik (genetik 50% dari paternal dan 50% dari maternal sehingga janin akan mempresentasikan antigen yang terdapat pada

paternal dan maternal). Namun, jika jumlah sel darah putih itu lebih dari $12.000/mm^2$ hal ini merupakan indikasi adanya leukositosis pada wanita hamil. Tingginya jumlah leukosit berakibat terhadap kehamilan dan janin, seperti prematur atau bahkan Infeksi Neonatal Awitan Dini (INAD) (Ross, 2011).

Hasil statistik, jumlah leukosit pada P1 mengalami penurunan jika dibandingkan dengan K+ ($p = 0,011$) yang dapat diartikan bahwa P1 berbeda bermakna dengan K+. Namun jika dibandingkan dengan K- ($p = 0,034$) yang dapat diartikan bahwa P1 juga berbeda bermakna dengan K-. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis P1 sudah dapat menurunkan jumlah leukosit namun belum dapat mengembalikan kedalam batas normal. Sedangkan pada P2 dan P3 jika dibandingkan dengan K+ ($p = 0,000$, $p = 0,000$) yang dapat diartikan bahwa P1 berbeda bermakna dengan K+. Namun, jika dibandingkan dengan K- ($p = 0,684$, $p = 0,981$) yang dapat diartikan bahwa P2 dan P3 terdapat penurunan tetapi tidak berbeda bermakna dengan K-. Hasil tersebut menunjukkan P2 dan P3 mampu menurunkan jumlah leukosit dosis menjadi normal. Ekstrak etanol kulit apel pada P2 telah efektif untuk dapat menurunkan jumlah leukosit pada tikus yang dipapar asap rokok. Jumlah leukosit dapat terus menurun pada P1, P2, dan P3 yang dapat disimpulkan bahwa semakin tingginya dosis ekstrak etanol kulit apel yang diberikan maka semakin menurunkan jumlah leukosit pada tikus bunting yang dipapar asap rokok. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Pertiwi (2016) menyatakan bahwa pada ekstrak etanol limbah kulit buah apel berpotensi memiliki aktivitas antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas DPPH (*2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil*).

Ekstrak kulit apel mengandung antioksidan yang tinggi, Aktivitas antioksidan pada apel paling banyak terdapat pada kulit yang mengandung kuersetin glikosida. Quersetin berperan sebagai antioksidan dalam mengurangi pembentukan radikal bebas dan dapat menurunkan radikal bebas. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian (Jannata dkk., 2014) menyatakan bahwa apel memiliki kandungan flavonoid yang sangat tinggi. Flavonoid sebagai antioksidan inilah yang melindungi tubuh dari kerusakan yang diakibatkan dari radikal bebas.). Flavonoid dapat bertindak sebagai antioksidan melalui dua mekanisme, 1) flavonoid menghambat kerja enzim yang terlibat dalam reaksi produksi anion superoksida, 2) flavonoid juga mengikat logam kelumit (logam yang memiliki peranan dalam tubuh seperti pada proses hayati dan fisiologis yang berhubungan dengan kesehatan manusia) terlibat dalam reaksi yang menghasilkan radikal bebas. Dengan potensial reduksi yang rendah, flavonoid menurunkan radikal dengan jalan mereduksi radikal superoksida, peroksil, alkoksil, dan hidroksil (Burda S and Oleszek, 2001). Berarti pemberian ekstrak etanol kulit apel mampu menurunkan jumlah leukosit melalui mekanisme antioksidan.

Penurunan jumlah leukosit darah tidak hanya dipengaruhi oleh pemberian ekstrak etanol kulit apel (eksogen). Dari uji regresi didapatkan hasil 57,9% penurunan jumlah leukosit darah yang dipengaruhi oleh pemberian ekstrak etanol kulit apel. Sedangkan sisanya sebesar 42,1 % dapat dipengaruhi oleh faktor lain seperti adanya aktivasi proteksis antioksidan dari dalam tubuh seperti SOD, katalase, glutathion peroksida (GSH), serta protein glutathion. Hasil korelasi dengan nilai $r = -0,761$ menunjukkan hubungan yang sangat kuat antara pemberian ekstrak

etanol kulit apel dengan jumlah leukosit darah. Arah korelasi bernilai negative sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin tingginya dosis ekstrak etanol kulit apel yang diberikan maka jumlah leukosit darah akan semakin menurun.

Berdasarkan dari kajian statistik dan teoritik diatas maka hipotesis dalam penelitian ini yaitu ekstrak etanol kulit apel (*Malus sylvestris*) dapat mencegah peningkatan jumlah leukosit pada tikus (*Rattus novergicus*) yang dipapar asap rokok dapat terbukti.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

- 1) Pemberian ekstrak etanol kulit apel dapat mencegah peningkatan jumlah leukosit darah tikus (*Rattus novergitus*) bunting yang dipapar asap rokok.
- 2) Dosis ekstrak etanol kulit apel efektif yang dapat mencegah peningkatan jumlah leukosit adalah dosis 2 sebesar 14 mg/KgBB/hari.

7.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, maka saran yang bisa diberikan yaitu diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui uji toksisitas dan uji teratogenitas ekstrak etanol kulit apel pada tikus bunting.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti Sussi, Isoflavon Kedelai dan Potensinya Sebagai Penangkap Radikal Bebas, *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*, 2008,13 (2):125-126
- Ardhie A.M. Radikal Bebas dan Peran Antioksidan dalam Mencegah Penuaan.*MEDICINUS*, 2011, 24(1) :5.
- Andri, W. Y. 2007. *Produksi tikus Putih (Rattus norvegicus)dengan Substansi Bawang putih (Allium sativum) dalam ransum*.Bogor: Institusi pertanian Bogor.
- Ardina Rinny, Respon Inflamasi Pada Perokok Pasif Di Kecamatan Pahandut Kota Palangka Raya Ditinjau Dari Jumlah Leukosit Dan Jenis Leukosit, *The Journal Of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*, 2018, 1(2): 31-40.
- Ayue, H. I. 2015. *Pengaruh Pemberian Monoklonal Antibodi Bovine Zona Pelusida 3 Terhadap Ekspresi B cell Lymphoma 2 Sel Granulosa dan Diameter Folikel Mencit (Mus musculus)*. Malang:Universitas Brawijaya.
- Burda S and Oleszek W. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *J Agric Food Chem* 2001; 49(6): 2774-2779
- Cadwell, E.2001. *Berhenti Merokok*. Yogyakarta: LKiS
- Chandra S, Tripathi AK, Mishara S, Amzarul M, Vaish AK. Physiological Changes in Hematological Parameters During Pregnancy. *Indian J Hematol Blood Transfus*.2012, 28(3):144
- Clark KE., and Irion GL. Fetal Hemodynamic Response To Maternal Intravenous Nicotine Administration. *Am J Obstet Gynecol*, 1992, 167 (6):1624-1631.

- Cunningham. 2013. *Obstetri Williams*. Jakarta: EGC
- Devasa, TPA., Tilak, JC., Bloor, KK., Sane, K.S., Ghaskadbi, S.S., Lele, RD. 2004. Free Radicals and Antioxidants in Human Health : Current Status and Future Prospects. JAPI. 52:794-804.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia.2009 .*Dampak Pencemaran Asap Rokok Terhadap Lingkungan* .<http://depkes.go.id>, diakses 23 april 2019.
- Dorland, W.A.N. 2011.*Kamus Saku Kedokteran Dorland*. Jakarta: EGC
- Dzulfikar, Hanan Lutfi. 2017. Gambaran Leukosit pada Ibu Hamil di Rumah Sakit Hasanah Graha Afiah Depok pada April 2016 – Juli 2017. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Effendi,Z. 2003.Peranan Leukosit Sebagai Anti Inflamasi Alergik dalam Tubuh.Sumatera Utara: Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara
- Fauzi,H., M. Nasim. 2010. *Siapa bilang Merokok Harom?*.Malang : Surya Pena Gemilang.
- Fessenden, R.J. and J.S. Fessenden.1986.*Kimia Organik Dasar Edisi Ketiga*, Jilid 1, Terjemahan oleh A.H. Pudjaatmaka, Erlangga, Jakarta.
- Fitria., Triandhini R, Mangimbulude J.C., dan Karwur F.F. Merokok dan Oksidasi DNA, *Sains Medika* , 2013, 5 (2) :113-120.
- Fowles, JF., Bates, M. 2000. *The Chemical Constituents in Cigarettes and Cigarettes Smoke : Priorities for Harm Reduction Epidemiology and Toxicology*. Group ESR; /kenepuru Science Canter.Porirua New Zealand.

- GATS. 2011. *Global Adults Tobacco Survey Indonesia Report 2011*. New Delhi:WHO Regional Office For South-East Asia.
- Guyton, A.C., John E.H. 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, ed. 11. Jakarta: EGC.
- Halliwell and Gutteridge. 1999. *Free Radikal in Biology and Medicine*. Oxford University Press.
- Hendrarto T. W., Leukositosis pada Ibu Sebagai Salah Satu Faktor Risiko Infeksi Neonatal Awitan Dini : Telaah Klinis di RSAB Harapan Kita. *Sari Pediatri*, 2011, 13 (1) : 33-40.
- Hanum H dan Aditya Wibowo., Pengaruh Paparan Asap Rokok Llingkungan pada Ibu Hamil terhadap Kejadian Berat Bayi Lahir Rendah.*Majority*. 2016, 5 (5): 22-25.
- Hoffbrand, J.E., Petit P.A.H. 2005.*Kapita Selekta Hematologi*, ed. 4. Jakarta: EGC.
- Iho S, Tanaka Y, Takauji R, Kobayashi C, Muramatsu I, Iwasaki H,et al. Nicotine induces human neutrophils to produce IL-8 through the generation of peroxynitrite and subsequent activation of NF-kappaB. *J Leukoc Biol*. 2003, 74(9): 42-51.
- Jannata RH, Gunadi A, Ermawati T. Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris Mill*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *E-jurnal Pustaka Kesehatan*, 2014, 2 (24): 6
- Janvier Labs. 2013. Research Model: Sprague Dawley Rat (Online). Tersedia di: <http://www.janvier-labs.com/rodent-research-models-services/research-models/per-species/outbred-rats/prodict/sprague-dawley.html> (Diakses: 20 juli 2018).

- Kiswari, DR. Rukman. 2014. Hematologi dan Transfusi. Jakarta : Erlangga, 2014
- Kumar, S.2011. Free radicals and antioxidants: human and food system. Adv. In Appl. Sci.Res.,2(1):129-135
- Krinke GJ. 2000. *The Handbook of Experimental Animals: The Laboratory Rat*. London: Academic Press.
- Komala, P. setia Rahardja. 2011. *Efek Fluvastatin Terhadap Selisih Jumlah Total Tikus Leukosit, Jumlah Neutrofil, dan Alkali Fosfatase Serum pada Tikus Wistar Sebelum dan Sesudah Paparan Asap Rokok*. Tesis.Semarang: Program Pascasarjana Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro.
- Lee KW., Kim YJ., Kim D., Lee HJ., and Lee CY. Major Phenolics in Apple and Their Contribution to The Total Antioxidant Capacity. *J Agri Food Chem*, 2003, 51 (22): 609-614.
- Lestario L.N dan Andini S. Kopigmentasi kuersetn apel (*Pyrus Malus*) terhadap stabilitas warna ekstrak buah duwet (*Syzygium Cumini*).2016. Vol 2, hal: 1-3
- Margantan A., 2001. *Banyak Makanan Berkhasiat Obat*. CV. Aneka, Solo
- Mazzone P, William, Mohammed, Vikram, Damir and luca. Pathophysiological Impact of Cigarette Smoke Toxicity in An Underapreciated Area. *Int J.Res. Public Health*, 2010, 7: 4111-4128
- MiantiM., 2010. Pengelolaan Budidaya Apel di Kusuma Agrowisata, Malang, Jawa Timur. *Institut Pertanian Bogor*, Bogor
- Natamiharja &Butar.2001.Kebiasaan Merokok dan Karies Gigi Spesifik pada Sopir-sopir di Medan.*Dentika Dent J*, 6:284-289.

- Nugraha, Gilang. 2015. *Panduan Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Dasar*. Jakarta: CV Trans Info Medika.
- Pearce, Evelyn C. 2008. *Anatomi dan Fisiologi untuk Paramedis*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Peraturan Pemerintahan Republik Indonesia Nomor 109 Tahun 2012 tentang Pengamanan Bahan yang Mengandung Zat Adiktif Berupa Produk Tembakau bagi Kesehatan*. 2012. Jakarta.
- Pertiwi R. D., Yari C. E., Putra N. F., Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Limbah Kulit Buah Apel terhadap Radikal Bebas DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazil). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 2016, 2(1): 81-92.
- Prakarsa A. B., Pengaruh Madu terhadap Jumlah Leukosit Total akibat Paparan Asap Rokok. *Majority*, 2015, 4 (7): 73-73.
- Prasetyastuti dan Sunarti. *Blood Vitamin E Malondialdehyde Levels In Pregnant at Goter Endemic Area, in Central Java*. juni, 2008. Vol.24, No 2.
- Preedy V.R., 2004. *Aging: Oxidatives Stress And Dietary Antioxidants*, 7th Ed., Academic Press/Elsevier, San Diego, p. 225-227.
- Rahmawati A, Mekanisme Terjadinya Inflamasi dan Stres Oksidatif pada Obesitas, *El-Hayah*, 2014, 5(1):2.
- Riswanto, 2013. *Pemeriksaan Hematologi Selayang Pandang*. Alfabedia Kanal Medika.
- Redha A, Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidan dan peranannya Dalam Siklus Biologis, *Jurnal Belian*, 2010, 9(2): 196-202.

- Rohman A., Sugeng R. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) secara In Vitro, *Farmasi Indonesia*, 2005, 16(3): 136-140.
- Ross,M.H., Pawlina W.2011. Histologi : A Text and atlas with correlated cell and Molecular Biology, 6thed. China:Lippincott Williams & wilkins.
- Sadikin, M. 2002. Biokimia enzim. Jakarta:Widya medika.
- Sakoda K, Yamamoto M, Negishi Y, Liao JK, Node K, Izumi Y. simvastatin decreases IL-6 and IL-8 production in epithelial cell. *J dent Res*.2006, 85 (3):520
- Schalm,O.W. 2010. *Schalm's Veterinary Hematology*,ed 6. UK: Wileyblackwell.
- Setipoe,M. 2000. *Kekhususan Rokok Indonesia*. Jakarta: PT Gramedia Widiasarana Indonesia.
- Simanjuntak K., Peran Antioksidan Flavonoid dalam Meningkatkan Kesehatan. *Bina Widya*, 2012, 23 (3): 135-140.
- Sirih G. E., Joice N. E., Sylvia R. M.,Hubungan Merokok dan Kadar Leukosit pada Perokok Kronik. *e-Biomedik*, 2017, 5 (2).
- Smith, T.2006. *Hati-hati dengan Nyeri Dada (angina)*.Jakarta :Arcan
- Sufrida Y, Iralansyah, Edi J, Mufatis W, 2007, Khasiat dan Manfaat Apel. Jakarta: Agro Media.
- Sulin D., 2009. Perubahan anatomi dan fisiologi pada perempuan hamil,dalam : *Ilmu Kebidanan Sarwono Prawirohardjo*. Edisi keempat. Jakarta: Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo pp. 174-187.

- Sulaksono, M Edhie. 2002. *Penentu Nilai Rujukan Parameter Hewan Percobaan sebagai Model Penyakit Manusia dan Hewan*, Jakarta: Litbang Kesehatan.
- Suryani A.I dan Andrew Johan., 2011. Efek Jus Tomat Terhadap Jumlah Total Leukosit dan Neutrofil Tikus Wistar yang leukositosis Setelah Diberi Paparan Asap Rokok. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Syahdrajat T. Merokok dan Masalahnya. *Dexa Media*, 2007, 4 (20): 184-187.
- Syamsuddin. 2014. *Asap Rokok Dan Ruangan Ber AC*. Jurnal Ilmiah Kesehatan Diagnosis Vol.4 No.2
- Tanzil A. Radikal Bebas Pada Gangguan Fungsi Sendi Rahang. 2008.vol:15. Pp 77-82. Internet address: www.identistry.ui.ac.id
- Taghavi. Nicotie Content of Domestic Cigarettes, Imported Cigarettes and Pipe Tobacco In Iron. *Addict and Health*, 2012, 4 (1-2): 28-35.
- Valavanidis, A., Vlachogianni, T., Fiotakis, K. 2009. Tobacco Smoke: Involvement of Reactive Oxygen Species and Stable Free Radicals in Mechanisms of Oxidative Damage, Carcinogenesis and Synergistic Effect with Other Respirable Particles. *Environmental Research and Public Health*. 6:445-462.
- Violita R. E., 2015. Pengaruh Pemberian Jus Batang Nanas (*Ananas comosus*) terhadap Jumlah Limfosit Tikus Wistar yang Diberi Paparan Asap Rokok. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Winarsi, H. 2007. Antioksidan Alami Dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan. Yogyakarta: Kanisius.

Wulandari A. Daya Antibakteri Ekstrak Buah Apel Manalagi Terhadap Bakteri Salmonella Thyposa. Jurnal Heallthy Science AAKMAL, 2012, 2:1-3.

LAMPIRAN

Lampiran 1. *Ethical Clearance*



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS KEDOKTERAN

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755
<http://www.fk.ub.ac.id> e-mail : kep.fk@ub.ac.id

KETERANGAN KELAIKAN ETIK ("ETHICAL CLEARANCE")

No. 235 / EC / KEPK – S1– KB / 10 / 2018

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

JUDUL : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris Mill*) dalam Mencegah Peningkatan Jumlah Leukosit, Kadar Serum LDL (*Low Density Lipoprotein*), Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Plasenta, Mencegah Penurunan Berat Plasenta, Hemoglobin (Hb), Aktivitas SOD (*Superoksida Dismute*) Plasenta, dan terhadap Berat Badan Bayi Baru Lahir (BBL) Tikus (*Rattus norvegicus*) Bunting akibat Paparan Asap Rokok.

PENELITI : 1. Ziana Zain Nurfadhilah 5. Retno Rahma Dila
2. Nadya Mufty Ramadhani 6. Nova Dewi Kusuma Hapsari
3. Fathan Hayati 7. Meiristya Abir Putri Kharima
4. Khalisa Erwanto

UNIT / LEMBAGA : S1 Kebidanan – Fakultas Kedokteran – Universitas Brawijaya Malang.

TEMPAT PENELITIAN : Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

DINYATAKAN LAIK ETIK.



Prof. Dr. dr. Moch. Istiadjid ES, SpS, SpBS(K), SH, M.Hum, Dr(HK)
NIK. 160746683

Catatan :

Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan
Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy.
Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).

Lampiran 2. Data Penelitian

Hasil Pengukuran Jumlah Leukosit pada IndukTikus

KelompokPerlakuan	Jumlah Leukosit (n=5) ($10^3/\mu\text{L}$)					Rata-rata
K-	6,1	6,5	7,6	7,1	5,0	6,46
K+	12,2	11,9	14,5	11,1	10,3	12
P1	11,1	7,2	7,3	9,3	10,2	9,02
P2	8,1	7,1	6,6	9,0	6,8	7,52
P3	5,9	8,0	6,79	7,1	6,7	6,89

Uji Deskriptif Data

Lampiran 3. Uji Normalitas, Uji Homogenitas Varian, dan Uji *One Way* ANOVA

Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov -Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Leukosit	,092	25	,200*	,986	25	,970

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Homogenitas Varian

Test of Homogeneity of Variances

Leukosit

Levene Statistic	df 1	df 2	Sig.
1,302	4	20	,303

Uji *One Way* ANOVA

ANOVA

Leukosit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1,01E+08	4	25170404,00	15,532	,000
Within Groups	32410080	20	1620504,000		
Total	1,33E+08	24			

Lampiran 4. Uji *Post Hoc*Uji *Post Hoc*

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Leukosit

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K Neg	K Pos	-5540,0000*	805,10968	,000	-7949,1898	-3130,8102
	1.4	-2560,0000*	805,10968	,034	-4969,1898	-150,8102
	2.8	-1060,0000	805,10968	,684	-3469,1898	1349,1898
	5.6	-438,0000	805,10968	,981	-2847,1898	1971,1898
K Pos	K Neg	5540,0000*	805,10968	,000	3130,8102	7949,1898
	1.4	2980,0000*	805,10968	,011	570,8102	5389,1898
	2.8	4480,0000*	805,10968	,000	2070,8102	6889,1898
	5.6	5102,0000*	805,10968	,000	2692,8102	7511,1898
1.4	K Neg	2560,0000*	805,10968	,034	150,8102	4969,1898
	K Pos	-2980,0000*	805,10968	,011	-5389,1898	-570,8102
	2.8	1500,0000	805,10968	,368	-909,1898	3909,1898
	5.6	2122,0000	805,10968	,101	-287,1898	4531,1898
2.8	K Neg	1060,0000	805,10968	,684	-1349,1898	3469,1898
	K Pos	-4480,0000*	805,10968	,000	-6889,1898	-2070,8102
	1.4	-1500,0000	805,10968	,368	-3909,1898	909,1898
	5.6	622,0000	805,10968	,936	-1787,1898	3031,1898
5.6	K Neg	438,0000	805,10968	,981	-1971,1898	2847,1898
	K Pos	-5102,0000*	805,10968	,000	-7511,1898	-2692,8102
	1.4	-2122,0000	805,10968	,101	-4531,1898	287,1898
	2.8	-622,0000	805,10968	,936	-3031,1898	1787,1898

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 5. Uji Korelasi Pearson dari Uji Regresi Linier Sederhana

Uji Korelasi Pearson

Correlations

		Konsentrasi	Leukosit
Konsentrasi	Pearson Correlation	1	-,761**
	Sig. (2-tailed)	,	,000
	N	20	20
Leukosit	Pearson Correlation	-,761**	1
	Sig. (2-tailed)	,000	,
	N	20	20

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Uji Regresi Linier Sederhana

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,761 ^a	,579	,555	1575,94422

a. Predictors: (Constant), Konsentrasi



Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian

Gambar 1. Alat Pengekstrak



Gambar 2.Oven



Gambar 3. Kandang



Gambar 4.Sekam



Gambar 5. Aklimatisasi dan Pemberianminum



Gambar 6 . Alat Timbangan Tikus



Gambar 7. Alat Sonde



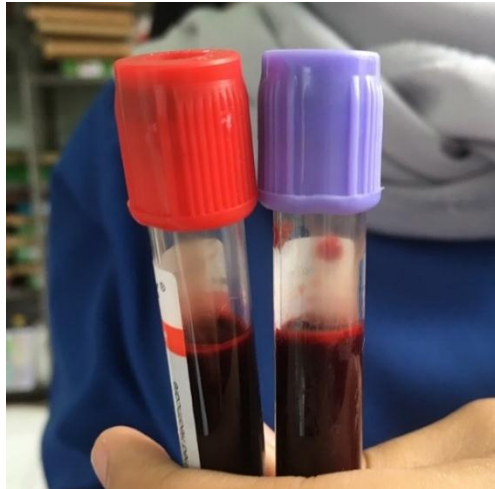
Gambar 8. Penyondean Ekstrak Kulit Apel



Gambar 9. Pembedahan tikus



Gambar 10. Pengambilan darah dari jantung induk tikus



Gambar 11. Penyimpanan sampel darah dlm edta

Lampiran 7. *Curriculum Vitae*

CURICULUM VITAE



Identitas Diri

Nama : MEIRITSYA ABIR PUTRI KHARIMA
 Tempat/Tanggal Lahir : KARANGANYAR, 13 MEI 1997
 Jenis Kelamin : PEREMPUAN
 Agama : ISLAM
 Pekerjaan : MAHASISWA
 Status : BELUM MENIKAH
 Alamat Tempat Asal : TROMOYO, RT 001/RW 001 TAWANGSARI KERJO
 KARANGANYAR
 Alamat Tempat Kos : JL. SUMBERSARI GANG 1 NO 13, LOWOKWARU,
 MALANG
 Nomer Telepon : 081295822218
 Email : abirmeiritsya@gmail.com
 Kewarganegaraan : INDONESIA

Latar Belakang Pendidikan Formal

2001-2003 : TK TAWANGSARI 1

2003-2009 : SD N 1 SUMBEREJO
2009-2012 : SMP N 1 KERJO
2012-2015 : SMA N 3 SRAGEN
2015-sekarang : MAHASISWA PROGRAM STUDI S1 KEBIDANAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS
BRAWIJAYA

Pengalaman Organisasi

ARMABI PERIODE TAHUN 2016

Pengalaman Kepanitiaan

1. STAFF LO SERVIX TAHUN 2016
2. STAFF ACARA IMD 2016
3. STAFF MATERI SERVIX TAHUN 2017
4. STAFF KONSUMSI BAKSOSBID 2017
5. KORDI PERKAP OSPRO TAHUN 2017